

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE FARMACIA**



**TESIS DOCTORAL**

**Posibles beneficios del consumo de lácteos funcionales en la  
población celíaca**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**María Ángeles Rodríguez Montealegre**

**Directores**

**Fransico J. Sánchez Muniz**  
**Sara Bastida Codina**  
**Juristo Fonollá Joya**

**Madrid**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE FARMACIA**  
**DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CIENCIA DE LOS ALIMENTOS**



**UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE**  
**MADRID**

**“POSIBLES BENEFICIOS DEL CONSUMO DE LÁCTEOS  
FUNCIONALES EN LA POBLACIÓN CELIACA”**

**MEMORIA TESIS DOCTORAL**

**M<sup>a</sup> ÁNGELES RODRÍGUEZ MONTEALEGRE**

**MADRID, Julio 2019**



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE FARMACIA**  
**DEPARTAMENTO DE**  
**NUTRICIÓN Y CIENCIA DE LOS ALIMENTOS**



**“POSIBLES BENEFICIOS DEL CONSUMO DE LÁCTEOS  
FUNCIONALES EN LA POBLACIÓN CELIACA”**

Tutora

Profesora Sara Bastida Codina

Directores

Profesor Francisco J. Sánchez Muniz

Profesora Sara Bastida Codina

Profesor Juristo Fonollá Joya

MEMORIA TESIS DOCTORAL

**M<sup>a</sup> ÁNGELES RODRÍGUEZ MONTEALEGRE**

Para optar al grado de Doctor en Farmacia

MADRID, Julio 2019







UNIVERSIDAD  
**COMPLUTENSE**  
MADRID

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS  
PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

D./Dña. MARÍA ÁNGELES RODRÍGUEZ MONTEALEGRE,  
estudiante en el Programa de Doctorado D9BI - DOCTORADO EN FARMACIA,  
de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de  
Madrid, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y  
titulada:

POSIBLES BENEFICIOS DEL CONSUMO DE LÁCTEOS FUNCIONALES EN POBLACIÓN CELÍACA

y dirigida por: FRANCISCO JOSÉ SÁNCHEZ MUNIZ, SARA BASTIDA CODINA, JURISTO  
FONOLLÁ JOYA

**DECLARO QUE:**

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Madrid, a 5 de julio de 2019

Fdo.: \_\_\_\_\_

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en  
la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.



Los Directores de la Tesis Doctoral titulada “POSIBLES BENEFICIOS DEL CONSUMO DE LÁCTEOS FUNCIONALES EN POBLACIÓN CELÍACA”, y el Prof. Dr FRANCISCO JOSÉ SÁNCHEZ MUNIZ, la Prof Drª SARA BASTIDA CODINA y el Prof Dr JURISTO FONOLLÁ JOYA

CERTIFICAN

Que la parte experimental de esta Tesis Doctoral se ha realizado en el Hospital Virgen de la Salud de Toledo, la Universidad Complutense de Madrid y Puleva Biotech.

Que los ensayos que se recogen en esta Tesis Doctoral se han realizado siguiendo los procedimientos estándar del Comité de Ética del Hospital Virgen de la Salud y los de la Declaración de Helsinki, como está indicado en la memoria del Proyecto. Todos los voluntarios participantes fueron informados de forma clara y concisa de los objetivos y aspectos concretos del estudio y firmaron un consentimiento informado con anterioridad al inicio del estudio.

Que dicha Tesis está inscrita con fecha 4 de abril de 2019 y que el

Obtuvo el visto bueno del Consejo de Nutrición y Ciencia de los Alimentos De la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense para su presentación en lectura y defensa.

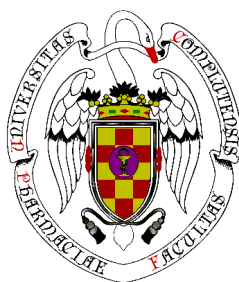
Lo certifican en Madrid a 4 de julio de 2019

Dr FRANCISCO JOSÉ SÁNCHEZ MUNIZ,

DrªSARA BASTIDA CODINA

Dr JURISTO FONOLLÁ JOYA





D. Ana López Sobaler Directora del Departamento de Nutrición y Ciencias de los alimentos (Nutrición) de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid

CERTIFICA

Que la memoria de Tesis Doctoral titulada “Posible beneficio de los ácidos grasos omega-3 en población celíaca” presentada por D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> Ángeles Rodríguez Montealegre reúne todos los requisitos para ser leída y defendida en tiempo y forma.

Lo que firmo en Madrid a tres de julio de dos mil diecinueve

VºBº del Director de Departamento de Nutrición y Ciencias de los alimentos (Nutrición



## **DEDICATORIA**

**A MIS PADRES, SÉ QUE ES POCO PORQUE MERECEN MUCHO MÁS,  
GRACIAS POR ENSEÑARME EL CAMINO CORRECTO Y POR DARME TODO  
INCONDICIONALMENTE**

**A MIS HIJOS, QUE SON LA LUZ DE MI VIDA Y LOS QUE DAN SENTIDO  
A MI EXISTENCIA**

**A MI HERMANA, SIN LA CUAL MI VIDA SERÍA MUCHO MÁS DIFÍCIL Y  
DE LA QUE APRENDO LO QUE ES SER BUENA PERSONA**

**A MIS TRES SOBRINOS, LOS TRES SON MUY IMPORTANTES PARA MÍ  
Y ALEGRAN MI CAMINAR**

**A MI CUÑADO QUE ES UN HERMANO PARA MÍ**

**A PACO, POR AGUANTARME DURANTE TANTAS Y TANTAS HORAS.**





## AGRADECIMIENTOS

Describir los agradecimientos en un pedazo de papel es realmente difícil, como difícil es entender cómo llegué hasta aquí, sin aburrir demasiado a quien le interese leer estas dedicatorias, les diré que todo comenzó ya en la infancia cuando mis padres y en especial mi madre me decía “estudia”, “tienes que ser la mejor” lo intenté y lo conseguí algunas veces, su ilusión era que fuera maestra, la oportunidad que ella no tuvo y una verdadera pena pues inteligencia le sobraba, eran tiempos difíciles los que les tocó vivir.

Pasó el tiempo, y de repente tenía 18 años y tenía que elegir carrera, lo lógico hubiera sido hacer magisterio o alguna carrera de ciencias porque me gustaban más que las letras para ejercer la docencia, nunca se me pasó por la cabeza farmacia, cuando lo dije en casa, mis padres me dijeron “Hija ¿farmacia? Nosotros no te podemos comprar una oficina de farmacia”, les contesté “No importa” y no sé por qué sentía que era lo que tenía que hacer.

Estudié la carrera y nuevamente un revés, quería hacer el doctorado pero no era el momento, el esfuerzo de mis padres ya había sido enorme y además, con 24 años ya pensaba que tenía que formar una familia.

Pasan los años y cuando algo te tiene que pasar, tarde o temprano ocurre y se dieron las circunstancias para hacer el DEA. En ese momento ya tenía mi bonita familia numerosa y como persona curiosa que soy pregunté si se podía hacer el doctorado pues en este curso conocí a un matrimonio de farmacéuticos docentes que me llamó la atención, “yo quería ser como ellos”, me encantaron las clases que nos dieron en Toledo y cuando surgió la oportunidad de hacer el doctorado, no lo dudé, tenía que ser con ellos.

Así han pasado mil años en los que he aprendido mucho, pero sobre todo en los que he compartido mi tiempo y, sobre todo, ellos el suyo, principalmente Paco, para el que las horas son segundos y el momento de terminar el trabajo no llega, tan perfeccionista, tan válido, para mí, el mejor profesor que he tenido, tengo y tendré, pero no sólo es grande como profesor si no que es enorme como persona.

Casi todos los que leáis esto habréis deducido que la otra persona de este dúo tan particular es Sara Bastida a la que debo los mejores consejos, además de buena profesional, buena madre y buena persona, gracias por consolarme y darme aliento en tantos momentos.

Por otra parte quisiera agradecer a estamentos y personas que me han ayudado en la elaboración de esta tesis doctoral:

A la Universidad Complutense y a sus miembros que me facilitaron todos los trámites que hubo que realizar en estos años.

Al colegio oficial de farmacéuticos de Toledo que tuvieron la genial idea de darnos a los colegiados la oportunidad de hacer estos estudios.

A la Asociación de celíacos de Castilla la Mancha, por su implicación en el proyecto y en especial a Fernando pozuelo por su labor incansable para la defensa de los celíacos, oque luchó por conseguir lo mejor para este colectivo

A la Asociación de celíacos de Madrid y en especial a Maunela Márquez por su inestimable ayuda

Al hospital Virgen de la Salud, a Patricia Algara Plana, A Daniel Pineda, a Emilio Laserna.

Al profesor Juristo por creer en el proyecto y hacerlo posible.

Al Doctor Julio del Valle del servicio de gastroenterología del hospital Virgen de la Salud.

A Josefa González Muñoz por ayudarme para hacer realidad este sueño, me ha encantado conocerte pues no sólo eres buena profesional sino además muy cercana. Gracias

A la dietista de la ACCM.

A Paloma Celada, con la que he compartido publicaciones, de la que no me canso de leer pues redacta que engancha al lector, a la que debo el poder terminar este trabajo y sin la que me hubiera sido más difícil terminar.

A Adrian, con el que he compartido charlas y algún café.

A Jorge, sin el que la entrega de esta Tesis no se si hubiera sido posible

A Juana una persona excepcional y a todos con los que el rato del café en la facultad era un placer.

A mi hijo Sergio, gracias por ser como eres, porque rayas la perfección y eres el bastón que me sostiene y ayuda cuando la vida se nos complica. Gracias por ser mi hijo, doy gracias a la vida por tenerte y te doy mil gracias a ti por tu fortaleza y honestidad. Te quiero mucho

A mi hija Lucía, la que a veces parece mi madre, la que se preocupa por todos. Eres especial, te quiero mucho y aunque no lo sabes vales mucho, y aunque a veces dices soy la del medio, te dire en el medio está la virtud “hija” Te quiero mucho y gracias por tu colaboración en este trabajo del que parte es tuyo.

A mi hija Laura, la que arregla todo y la que sabe de todo. Haces fácil lo difícil. Tienes un carácter envidiable, sigue confiando en ti. Te doy las gracias por lo mucho que me has ayudado nunca pensé que el comprarte ordenador me serviría para acabar una Tesis, en el título deberías estar tú. Te quiero mucho

A mi hermana, por su gran valía profesional y personal. Porque eres como mi madre, mi mejor amiga y a la que no le digo lo mucho que la quiero tanto como se merece.

A mi padre, la persona más recta, honesta y, cómo no, justa que conozco. Si hasta el nombre lo dice “Justo”. Gracias porque a pesar de llamarnos cinco veces al día, de preocuparte por todos nosotros, ojalá, durante muchos años, sigamos diciendo “ otra vez el pesado de mi padre”. Te quiero mucho.

A mi madre, la persona más inteligente y lista que conozco, el ejemplo a seguir, la mejor madre del mundo. Por ponerte un defecto que no sabes lo mucho que vales a pesar de que ahora necesites un poco de los demás, sé positiva, te quiero y queremos mucho todos.

A mi sobrino, Miguel Angel, no sólo eres mi sobrino y lo sabes, eres mi héroe en todo, todo lo que siento no lo puedo escribir, no hay papel suficiente. Te quiero.

A mi sobrino Roberto Carlos, eres el del medio, ni el pequeño, ni el mayor, pero eres especial además y aunque nosotros no le damos demasiada importancia soy tu madrina, te quiero mucho, eres mi filósofo particular, el que tiene un carácter para copiar.

A mi sobrino Alejandro, mi niño, el que es casi un hijo, estos últimos 7 años que hemos estado en Madrid, nos hemos conocido y te quiero mucho, eres el único que me llama tía, eres mi niño pequeño.

A mi cuñado, porque en los momentos duros nos has echado un capote. Gracias, te quiero

A todas las personas que han pasado por mi vida, de algunas aprendí, con otras compartí momentos felices y me acompañaron y a veces guiaron en los difíciles, sólo os puedo expresar mi eterna gratitud con un “gracias “que sale del alma.





## ÍNDICE

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	29
Breve revisión histórica .....	30
1.1. Historia de la enfermedad celiaca.....	30
1.2 El gluten y su procedencia.....	39
1.3. Generalidades sobre la enfermedad celíaca. Factores ambientales. ....	42
Otros factores dietéticos: Lactancia materna y edad de introducción del gluten.....	43
Otros factores ambientales .....	45
1.4. Epidemiología.....	45
Grupos de riesgo.....	47
1.5. Predisposición genética.....	47
1.6 Criterios diagnósticos de la Enfermedad celíaca.....	49
Pruebas serológicas .....	52
Biopsia duodenal histológica.....	53
Estudio genético.....	55
1.7. Patogenia.....	55
1.8. Clínica.....	57
Características clínicas de la enfermedad.....	58
Enfermedad celíaca clásica.....	60
Enfermedad celíaca paucisintomática o monosintomática.....	61
Enfermedad celíaca silente.....	61
Enfermedad celiaca latente.....	61
Enfermedad celíaca potencial .....	61
Enfermedad celíaca resistente .....	62
1.9 Entre los procesos patológicos que pueden asociarse a la EC cabe destacar:.....	62
Trastornos neurológicos y psiquiátricos.....	66
Otros trastornos asociados.....	66
Complicaciones de la EC no tratada.....	67
1.10. Modificaciones de la dieta.....	67
1.11 Tratamiento .....	68
Clasificación de los alimentos según su contenido en gluten .....	69
Precauciones de la dieta sin gluten .....	69
Calidad de vida.....	71
1.12Sensibilidad al gluten no celiaca (SGNC) .....	71
Concepto y epidemiología .....	71

1.13 Digestión, absorción y transporte de grasas .....	73
Metabolismo de las lipoproteínas: .....	73
Otros marcadores de riesgo .....	77
1.14 Síntesis de novo de los ácidos grasos .....	88
1.15 Síntesis de LCPUFA a partir de LA y ALA .....	88
AGP $\omega$ -3 procedentes de aceite de pescado .....	90
Derivados lácteos enriquecidos con AGP OMEGA-3 .....	92
BIODISPONIBILIDAD DE ÁCIDOS EPA Y DHA .....	98
Funciones fisiológicas de los PUFA n-6 y n-3 y de los eicosanoides .....	122
Relación entre inflamación y AGPI $\omega$ -3. ....	122
2. Hipótesis .....	145
2.1 Objetivos .....	145
3. Material y Métodos .....	149
3.1. Selección del Centro. ....	149
3.2. Selección de voluntarios .....	149
3.3 Diseño del estudio de Intervención .....	150
3.4 Recogida de datos y toma de muestra .....	151
4. Resultados .....	175
4.1 Descripción basal de los pacientes .....	175
4.1.1 Datos antropométricos y hábitos tóxicos .....	177
5. DISCUSIÓN .....	229
5.1 Anamnesis de los voluntarios .....	230
5.2 Hábitos tóxicos .....	232
5.3. Edad de diagnóstico y sintomatología .....	233
5.4 Efectos del consumo del lácteo enriquecido en omega-3 y folatos sobre las características de la dieta de población celiaca objeto de estudio .....	236
5.5. Efecto del consumo de la leche enriquecida en AGP $\omega$ -3 y folatos sobre los niveles de ácidos grasos en suero en la población celiaca objeto de estudio. ....	237
6. RESUMEN y CONCLUSIONES .....	249
7. Bibliografía .....	255
8. ANEXOS .....	2555

## ABREVIATURAS

aa	Aminoácidos
AA	Ácido araquidónico
AAE, EMA	Antiendomisio
ACh	Acetilcolina
Acetil coA	Acetil coenzima A
ADAIE	Anafilaxis dependiente de los alimentos inducida por el ejercicio
AGE	Ácidos grasos esenciales
AG ó FA	Ácidos grasos
AGA	Antigliadina
AGI	Ácidos grasos insaturados
AGL	Ácidos grasos libres
AGP	Ácidos grasos poliinsaturados
AHA	American Heart Association
AINE	Antiinflamatorios no esteroideos
ALA	$\alpha$ -linolénico
AR	Artritis reumatoide
CDs	Células dendríticas
ChREBP/Max-like factor X (MLX)	Concentración nuclear de la proteína de unión al elemento de respuesta a hidratos de carbono
CLA	Isómeros del ácido linoleico conjugado
CLN	Isómeros del ácido linolénico conjugado
COX	Ciclooxigenasa
CPAs	Células presentadoras de Antígeno
CT	Colesterol total
DG	Diacilgliceroles
DGP	Péptidos de gliadina desaminados
DH	Dermatitis Herpetiforme
DHA	Ácido docosahexaenoico
DIL.	Detector de ionización de llama
DLG	Dieta libre de gluten
DM-2	Diabetes mellitus de tipo 2
DSG	Dieta sin gluten
ECR	Enfermedad celiaca resistente
ECV	Enfermedades cardiovasculares
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria



EII	Enfermedad inflamatoria intestinal
ELAM-1	E-selectina
EPA	Ácido eicosapentaenoico
EPP	Enteropatía perdedora de proteínas
ESPGHAN	European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition
ETA	Ácido eicosatrienoico
FABP (fatty acid binding proteins)	Proteínas fijadoras de ácidos grasos
FAME	Ésteres metílicos de ácidos grasos
GC	Cromatografía gas-líquido
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HETE	Ácidos hidroxieicosatetraenoicos
5-HETE5-	hidróxido del ácido eicosatetraenoico
HLA	Antígenos leucocitarios humanos
HPETE-	Hidroperoxitetraenoicos
IAM.	Infarto agudo de miocardio
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1
IDL	Lipoproteína de densidad intermedia
IFN-γ	Interferón gamma
IgA	Antigliadina IgA
IgG	Antigliadina IgG
IGF-1	Factor de crecimiento análogo de la insulina tipo 1
IL1	Interleuquina 1
IL-15	Interleuquina 15
IMC	Índice de masa corporal
LA	Ácido linoleico
LAM-1	L-selectina
LDLc	Colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad
LDLox	Lipoproteínas de baja densidad oxidadas
LIE	Linfocitos intraepiteliales
LOX	Lipooxigenasas
LT	Leucotrienos
LT5	Leucotrienos de la serie 5
LTB5	Leucotrienos B5
MBP	Proteína básica principal
MeHg	Metilmercurio

MG	Monoacilgliceroles
MHC	Moléculas del complejo principal de histocompatibilidad
MUFA	Ácidos grasos monoinsaturados
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina
NK	Natural killer
NF-κB	Factor nuclear κ de linfocitos B
NT-proBNP	N-terminal del péptido natriurético cerebral
OMS	Organización mundial de la salud
PAF.	Factor activador de las plaquetas
PBMC	células mononucleares de sangre periférica
PG	Prostaglandina
PGI	Prostaciclina
PL	Fosfolípidos
PPAR	Proliferadores de los peroxisomas
PPARα	Receptores que estimulan la proliferación de los peroxisomas
PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados
ROS	Radicales libres de oxígeno
Rv	Resolvinas
SFA	Ácidos grasos saturados
SGNC	Sensibilidad al gluten no celiaca
SII	Síndrome de Intestino Irritable
SNC	Sistema nervioso central
SREBP-1.	Proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides
antitransglutaminas anti-TGt	
TXA2	Tromboxano A2
TXA3	Tromboxano A3
TG	Triglicéridos
TLC	Cromatografía en capa fina
TNF-α.	Factor de necrosis tumoral alfa
tTG	Antitransglutaminasa
UV	Rayos ultravioleta
VCAM-1	Molécula de adhesión vascular 1
VLDL IDL	Lipoproteínas de muy baja densidad



## Summary and Conclusions

Celiac disease (CD) is an enteropathy of the small intestine that affects about 1-3% of the population in the world. It affects genetically predisposed individuals and is caused by exposure to gluten, which is the indispensable factor to develop it. Associated with the presentation of CD and due to chronic inflammation of the mucosa of the small intestine, symptoms such as anemia, chronic diarrhea, abdominal pain and malnutrition occur.

To date, there is no specific treatment other than the strict gluten-free diet, but it is difficult to evaluate compliance with said diet, since gluten is found in a high diversity of foods given its value as a binder, thickener, etc. and there is no reliable method to know if the "gluten-free diet" is followed rigorously. In addition, many clinicians are not in favor of carrying out new biopsies so the use of different biomarkers becomes relevant for the disease monitoring. Due to the elimination of conventional foods containing gluten and the high price of free-gluten foods, there is a risk of significantly reducing the content of carbohydrate and some micronutrient, while raising the consumption of foods rich in fat and proteins, a situation that could aggravate, among other aspects, the cardiovascular profile and the associated pro-inflammatory situation. That is why the use of functional foods (e.g. enriched in polyunsaturated fatty acids (PUFA)  $\omega$ -3 and folates) that would improve both nutritional and physiological status becomes very important in CD.

In this Doctoral Thesis, the effects of the daily consumption of 500mL of semi-skimmed milk enriched in very long-chain AGP  $\omega$ -3 (eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids) and folate versus another semi-skimmed control have been studied in CD diagnosed subjects. A randomized, double-blind, parallel-controlled, six-month study was designed. The inclusion criteria were to be diagnosed of CD, to take a gluten-free diet and to assiduously take milk. The volunteers committed to consume 500mL/day of the assigned milk, and not to change the usual diet or the physical activity. We contacted 60 volunteers, of whom 39, 29 women and 10 men aged between 15 and 71 years, completed the study. Twenty of them received the control milk (A), and 19 the milk B. After the study, the "plicas" were opened and the nature of the milks tested was revealed, resulting in B "functional" milk.

In order to know the impact of functional milk (enriched in AGP  $\omega$ -3 and folates), they were studied basally and after 2, 4 and 6 months of study: a) the quality of the diet (adjustments to the RDA, profile lipid, caloric profile,  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 ratio and healthy eating index, IAS); b) anthropometric markers (BMI); c) serum fatty acids profile; d) cell count and blood protein concentrations and markers of liver function (transaminases and alkaline phosphatase); e) concentrations of inflammation markers (CRP, TNF $\alpha$ , IL2, IL6) and damage to the intestinal mucosa (antiendomysial, antitransglutaminase and anti gliadin A<sub>2</sub>); f) cardiovascular risk (lipids, lipoproteins, risk ratios and homocysteine).

**The results obtained allow us to conclude:**

### **A About birth weight, breastfeeding, and introduction of food and diagnosis of disease**

1. The vast majority of volunteers reported normal birthweight, at least 3 months of breastfeeding and incorporation of gluten-containing foods after six months of life, and they were CD diagnosed between 15 and 40 years.

### **B. About anthropometric markers and toxic habits.**

2. 23% were type II overweight or type I obese, 28% smoked, 10% drank at least 1 drink/day and 38% were sedentary.

### **C. About the basal characteristics of the diet and the markers used.**

3. A moderate percentage of volunteers presented deficient mineral and vitamin intakes. The diet of the volunteers was rich in dairy products, meats, fruits and vegetables and can be defined hypohydrocarbonated, hyperproteic, hyperfat and with an AGS high content. The consumption of olive oil ensured an acceptable fatty profile in terms of the AGS/AGM/AGP ratio, with a  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 ratio close to 4. The quality of the diet according to the IAS was unacceptable with very low score for cereals, and variety of diet.

4. In the vast majority of volunteers, the size and number of erythrocytes, their hemoglobin content, the formula and leukocyte count, as well as the number of platelets were within normal ranges, discarding the presence of anemia.

5. The cardiovascular risk was low taking into account the value of the lipoprotein lipids, risk ratios and homocysteine.

### **D. About the characteristics and basal differences of the markers in the two experimental groups.**

6. No differences were found between the two experimental groups in characteristics at birth, type of lactation and introduction of cereals or cow's milk, in age and diagnostic symptoms.

7. The content of macro and micronutrient of the basal diet did not differ between the two groups. However, the quality of the basal diet of the functional milk group was lower.

8. At baseline, no significant differences were found between the two groups except for the anti-endomysial antibody titer that was higher and the CT/HDLc and LDLc/HDLc risk ratios that was lower in the patients who were assigned to the group of functional milk.

### **E. About the changes due to the consumption of functional milk.**

#### **e.1. Dietary changes**

9. No relevant changes were observed in the contribution of macronutrients during the study, except in the case of AGP  $\omega$ -3 that rose around 14% (EPA 4.5 times, DHA 2.5 times). The differences in the absolute and relative change rates are reduced with the duration of the study. Among the changes to note, a greater intake of carbohydrates and fiber was observed during the first two months.

9. Regarding micronutrients, the exchange rates for minerals tended to be more favorable for individuals in group B, with differences in the changes being reduced with the duration of the study. Also for vitamins the changes at two months were favorable for group B, especially for the contribution of folates, vitamin E and that highly reduced the prevalence of volunteers with reduced intakes of such vitamins.

10. The differences in the overall quality of the basal diet disappear in the study, particularly at two months and attributable to the concept of variety.

#### **e.2. changes in the serum fatty acid profile**

11. The content of eicosapentaenoic acid and AGP  $\omega$ -3 (% of total fatty acids and in g/dL) was higher and the linoleic/eicosapentaenoic ratio was lower in group B, particularly during the first 4 months of the study.

### **e.3. changes in biomarkers**

12. No significant or significant changes were observed in the erythrocyte count, the hemoglobin content, the leukocyte count and formula, in the platelet count. In no case was anemia detected. Nor were differences observed in uric acid or total proteins and bilirubin

13. Liver function markers remained very consistent throughout the study. The reduction of phosphorus in plasma at two months in the group of functional milk was the most relevant change on serum minerals.

14. The consumption of functional milk did not affect the inflammatory marker levels. The baseline differences in the anti-endomysial antibody titer between the two groups disappear during the study. The contribution of functional milk reduces the production of IgA<sub>2</sub> at 2 months with respect to that of lot B, which should be considered relevant.

15. Regarding cardiovascular risk factors, the most relevant changes occur at the level of homocysteine in group B individuals. The overall rate of change was around 25% during the first 4 months of the study, subsequently decreasing to 15%.

## **General conclusion**

Except for the amount and energetic contribution of the AGP  $\omega$ -3, and the  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 ratio, the inclusion of the functional milk with respect to that of the control dairy did not significantly affect the quality of the diet, making it possible to associate the changes in the different markers with the consumption of the dairy products studied. It was not possible to relate the changes observed in the different markers with the characteristics at birth given the characteristics of normality in most of them.

The bioavailability of the functional ingredients present in the functional milk is high given the observed increase in serum of AGP $\omega$ -3 and the homocysteine reduction. The concentrations used in the experimental milk were not effective reducing some markers of inflammation, triglyceridemia or improving the lipoprotein profile of the volunteers. This seems related to the reduced levels of such markers at the beginning of the study and inflammatory markers. In no case, except for IgA<sub>2</sub>, and phosphorus, functional milk modified negatively the levels of the different biomarkers tested, suggesting the safety of its long-term use in celiac patients, although the effects tend to be reduced with the test time.

Given the basal levels of the patients, we believe it is important to perform a similar study in patients diagnosed *de novo* for CD, where the levels of damage and inflammation markers would be much higher and therefore more susceptible to be reduced by the contribution of this functional milk.



## **1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**





## 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

La enfermedad celíaca (EC) o celiacía es una patología crónica e autoinmune (Leffler DA y col., 2015; Lundin KE y col., 2015) especialmente en individuos con una predisposición genética a padecer esta enfermedad. La gravedad de esta patología es dependiente de la edad del paciente y de su situación fisiopatológica (Polanco I y col., 1990; Troncone, R y col., 1993).

La EC se debe a una intolerancia permanente a algunas proteínas que se encuentran en los cereales, principalmente la gliadina y otras proteínas afines, presentes en cereales como el trigo, avena, cebada y centeno o cualquiera de sus variedades e híbridos (escanda, espelta, kamut y triticale, entre otros) y productos derivados (Tivoli F y col., 2015; Penagini F y col., 2013; Kupper C, 2005). Esta intolerancia genera la atrofia severa de las vellosidades intestinales que, a su vez, produce una grave mala absorción de los nutrientes en el intestino (Troncone R y col., 1993).

Pero la EC no solo es una intolerancia alimentaria, es una enfermedad sistémica (Rodrigo L y col., 2008; Polanco I, 2008). El gluten provoca en los pacientes una respuesta inmunológica anormal generando autoanticuerpos (Ciccocioppo R y col., 2015; Molberg O y col., 1998) que pueden atacar a todo el organismo, no solo al intestino (Leffler DA y col., 2015; PH, Lundin KE y col., 2015). Cuando la EC no es tratada adecuadamente puede derivar en complicaciones graves como cáncer, trastornos neurológicos y psiquiátricos (denominados neurogluten), enfermedades cardiovasculares y osteoporosis (Troncone R y col., 1993; Tommasini A y col., 2011; Nadhem ON y col., 2015; Woodward J, 2016). No obstante, hay casos en los que, como en la enfermedad celíaca refractaria, no se consiguen mejorías con el tratamiento con dieta y, además, en situaciones, particularmente en los niños, se puede dar la llamada 'crisis celíaca' que aparece súbitamente y que suele ser mortal (Woodward J, 2016).

Es la enfermedad crónica intestinal que con más frecuencia aparece en los niños, siendo en la actualidad entre un 1/100-1/150 de la población total (Bai J y col., 2012). Si bien es verdad que su incidencia ha aumentado en los últimos años, este aumento puede explicarse por el uso de métodos diagnósticos más sensibles que detectan la enfermedad en estadios muy tempranos y/o en fases asintomáticas (Fasano A y col., 2001). En cualquier caso, un diagnóstico precoz y un tratamiento correcto son imprescindibles para evitar que la enfermedad produzca efectos graves sobre el organismo. La relación de la EC diagnosticada y no diagnosticada en Europa es de alrededor de 5:1 a 13:1. Mientras que la relación entre hombres y mujeres es de 2:1 (Bai J y col., 2012).

Esta enfermedad está presente no sólo en Europa y los países poblados por personas de ascendencia europea, sino también en Oriente Medio, Asia, Sudamérica y norte de África, y puede llegar a afectar hasta al 1% de la población en algunos países occidentales. La prevalencia mundial se estima en 1/266, y en España oscila entre 1/118 en la población infantil y 1/389 en la población adulta. Estos datos se refieren a la EC sintomática, pero dado que un porcentaje importante de casos permanecen sin detectar, se estima que la prevalencia es mucho mayor. (Gil Hernández, A y col., 2010). La EC presenta una prevalencia en torno al 1% de la población (Ludvigsson JF y col., 2013). Sin embargo, únicamente están diagnosticados 1 de cada 7-10 del total de los afectados, constituyendo lo que se ha denominado "*iceberg celíaco*" (Rodrigo L y col., 2008).

La EC es más frecuente en mujeres que en hombres con una diferencia de 4:1 (Kratzer W y col., 2013) Según algunos estudios tiene un patrón de presentación bimodal con dos picos de incidencia en la edad. Entre 1-3 años en niños y 30-50 años en adultos; en otros muestran el segundo pico bimodal entre los 20 y 40 años. La prevalencia de la EC en la mayoría de los países

es de un caso cada 250-500 habitantes, aunque probablemente pueda ser superior, ya que muchos pacientes presentan formas paucisintomáticas de difícil diagnóstico.

## Breve revisión histórica

### 1.1. Historia de la enfermedad celiaca.

En la historia de la enfermedad pueden considerarse diferentes fases delimitadas por avances en el diagnóstico y en el conocimiento etiopatogénico de la misma (Tommasini A y col., 2011).



**Figura 1.** Areteo de Capadocia (Siglo I d.C.)

Tomada de <https://doi.org/10.33588/rn.4806.2008448>

Areteo de Capadocia (**Figura 1**), médico griego del siglo I d.C., que vivió durante el reinado de Nerón o Vespasiano y fue contemporáneo del médico romano Galeno, es el primero en describir un caso de enfermedad celíaca (EC) en su tratado “Sobre las causas y los síntomas de las enfermedades” (editado y traducido por Francis Adams en 1856 (Fasano A, 2009). Por lo tanto, la primera mención a la celiaquía se da en el siglo I d.C.

Areteo en el capítulo ‘Diatesis celíaca’ de aquel tratado describe la diarrea grasa o esteatorrea como uno de los síntomas de la enfermedad que se da tanto en niños como en adultos, además de otros elementos que suelen acompañarla, como la pérdida de peso y la diarrea crónica reincidente. En otro capítulo del mismo tratado se emplea el término ‘celíaco’ para calificar a los enfermos que padecen este mal: “si el estómago no retiene los alimentos y pasan a través de él sin ser digeridos, y nada es asimilado por el organismo, denominamos a tales personas como celíacas”.

Areteo también menciona en su tratado, cuando se refiere a la celiaquía, que “el pan es raramente adecuado para proporcionar energía (a los niños celíacos)” (García Almeida JM y col., 2012). De esta observación se puede colegir que el médico griego ya sospechaba de los efectos adversos del pan sobre los niños intuyendo en gran parte la causa del problema celíaco.



**Figura 2.** Samuel Gee (1839-1911).

Tomada de [https://en.wikipedia.org/wiki/Samuel\\_Gee](https://en.wikipedia.org/wiki/Samuel_Gee)

La EC aparece de nuevo en la bibliografía médica dos siglos después, cuando un médico británico, Samuel Gee (**Figura 2**), imparte una conferencia en Londres (Gee 1888) (Vogten AJ y col., 2008; Losowsky MS, 2008) donde señala: “Hay una especie de indigestión crónica que se da en personas de todas las edades, pero que tiene una tendencia especial a afectar a niños de entre uno y cinco años. Los signos de la enfermedad se producen en las heces, que son sueltas, no formadas, pero no líquidas, más voluminosas de lo que los alimentos ingeridos parecían justificar; de color pálido, como si contuvieran bilis; con aspecto de levadura y espuma, probablemente debido a la fermentación, con un hedor con frecuencia muy fuerte, puesto que los alimentos experimentan putrefacción en lugar de digestión” (Losowsky MS, 2008).

La intuición médica de Gee le permitió observar que la celiaquía era un síndrome de malabsorción al ingerir alimentos, lo que no llegó a determinar fueron los alimentos que podían sentar mal a estas, sin embargo, a Gee le debemos la conclusión de que debía ser con la dieta con la que curasen estos enfermos. Aunque acierta al describir la EC se equivoca al recomendar que los pacientes afectados se alimenten con pan “cortado fino y bien tostado por ambos lados”. Aunque la primera insinuación de relación entre la dermatitis herpetiforme y la enfermedad celíaca no se hace hasta 1955, es en 1884 cuando Louis Dühring describe por primera vez tal afectación cutánea, pero sin relacionarla con la celiaquía, ni separarla claramente de otras enfermedades cutáneas que cursan con ampollas” (Losowsky MS, 2008).

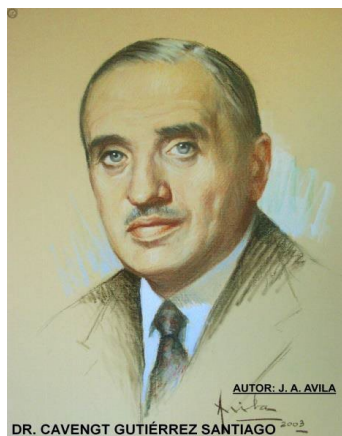


**Figura 3.** Christian Archibald Herter (1865-1910).

Tomada de: [https://en.wikipedia.org/wiki/Christian\\_Archibald\\_Herter\\_\(physician\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Christian_Archibald_Herter_(physician))

También en el siglo XIX, Christian Archibald Herter (**Figura 3**), un pediatra norteamericano, escribe “On infantilism from Chronic Intestinal Infection”. Este médico afirma que “las grasas son mejor toleradas que los hidratos de carbono”, contribuyendo con esta observación en el avance para tratar la EC. Su aportación es tan importante que a esta enfermedad se la llega a llamar la enfermedad de Gee Herter.

Sir George Frederic Still, considerado el padre de la pediatría británica, imparte en 1921 una lección magistral en el Royal College of Physicians, en la que se explaya hablando sobre los efectos perniciosos del pan en la EC. Ese mismo año esta aseveración es desarrollada por John Howland en su discurso “Prolongada intolerancia a los hidratos de carbono” impartido en la American Pediatric Society. Howland resalta la importancia de excluir/reducir los hidratos de carbono en las dietas de los niños celíacos: “Las experiencias clínicas han mostrado que, de todos los elementos de las sustancias nutritivas, los hidratos de carbono son los que deben ser rigurosamente excluidos, una vez estos ampliamente reducidos, los otros elementos son casi siempre bien aceptados teniendo en cuenta que la absorción de las grasas no es tan satisfactoria como en las personas sanas”. Asimismo, asevera que la dieta, dividida en tres fases, solo admite la ingesta de hidratos de carbonos en la última de ellas, en la que aconseja, tras observar la capacidad y reacción del intestino, añadir gradualmente los cereales. Howland recalca que el tratamiento es severo pero efectivo a largo plazo (García-Nieto VM, 2013).



**Figura 4.** Santiago Cavengt Gutiérrez. Retrato, realizado por José Antonio Ávila.

Tomado de:

<https://www.bancodeimagenesmedicina.com/index.php/bancodeimagenes/retratos/cavengt-gutierrez-santiago-4912>

En nuestro país también hubo pediatras que observaron las anomalías digestivas que presentaban algunos de sus pacientes. Uno de los más reconocidos es Santiago Cavengt Gutiérrez (**Figura 4**).

Cuatro años después Cavengt publica en la revista *La Pediatría Española* dos casos de enfermedad celíaca con el nombre de infantilismo digestivo. En este artículo reconoce estar al tanto de los trabajos de Gee, pero habla de conceptos nuevos como la relación de la enfermedad con el metabolismo óseo. Este pediatra español fue el primero en dar a conocer la EC en España. Su interés por esta enfermedad permanece intacto durante varias décadas pues en el año 1950 se lee una comunicación suya en una Reunión de la Sociedad de Pediatría de Madrid, cuyo título es “Consideraciones clínicas sobre la celiaquía” (Cavengt S, 1950).

Tan solo resaltar que en 1935, el catedrático de Pediatría de la Facultad de Medicina de Barcelona Martínez Vargas publica en la revista *La Medicina de los niños* un artículo donde habla de enfermedad celíaca, recogiendo la descripción de Recalde Cuestas y Travella “la mayoría de estos niños son neurópatas, caprichosos, propensos a la cólera, a la inapetencia y a la bulimia” (García Nieto VM, 2013).

En 1945, otro profesor universitario y español, Manuel Suárez Perdiguero, realiza un estudio sobre 17 niños celíacos. En las exploraciones comprueba que los pacientes tienen una curva de glucemia plana cuando se realizaba por vía oral y normal por vía endovenosa. Por otra parte, las radiografías del tracto intestinal presentan un tránsito lento de la papilla en el propio intestino delgado, así como unas asas dilatadas y atónicas. Ante estas observaciones, el doctor Suárez concluye que la enfermedad se debe a una insuficiencia funcional del intestino delgado (Suárez Perdiguero M, 1945).



**Figura 5.** Willem Karel Dicke (1905-1962).

Tomada de:

[https://www.google.com/search?q=Willem+Karel+Dicke+fotos+de+libre+acceso&client=firefox-b-ab&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=2ahUKEwj42cjBp5\\_eAhWj4YUKHcyOA-YQ7Al6BAgGEO&biw=1920&bih=926](https://www.google.com/search?q=Willem+Karel+Dicke+fotos+de+libre+acceso&client=firefox-b-ab&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=2ahUKEwj42cjBp5_eAhWj4YUKHcyOA-YQ7Al6BAgGEO&biw=1920&bih=926)

En 1950, el médico holandés Willem Karel Dicke (**Figura 5**), defiende en su tesis doctoral en la universidad de Utrecht, la importancia de eliminar de la dieta de los niños celíacos el trigo, el centeno y la harina de avena, hecho que implica un gran avance en lo referente a una Dieta sin gluten en el tratamiento de la EC.

Dicke observa que la tasa de mortalidad infantil entre los celíacos antes de la Segunda Guerra Mundial era más elevada que durante la misma (pasó del 30-35% a casi el 0%) y lo asocia a que a los niños durante esa guerra se les suministraba en el hospital, diferentes papillas de vegetales, pero raramente con harina de trigo (Losowsky MS, 2008). De esta observación concluye que el no tomar la harina de trigo puede estar relacionado con la disminución en la mortalidad de estos niños. Basándose en esta intuición realiza un ensayo clínico en un número reducido de niños para demostrar que su teoría es acertada (Dicke Wk y col., 1953). También observa que al reemplazar los alimentos con harina de trigo por otros que contienen harina o almidón de maíz, o harina de arroz, reaparece el apetito en los pacientes y mejora la absorción de grasa, llegando incluso a desaparecer la esteatorrea.

Las primeras biopsias intestinales se realizan en 1956 (Shiner M, 1956) y en ellas se observa que el gluten daña la mucosa intestinal de los celíacos, algo que Dicke afirma en su Tesis. Por tanto, se puede considerar a Willem Karel Dicke el pionero en la “Dieta sin gluten” de los niños celíacos,

publica su primer informe en 1941 en Het Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde en el que se habla de la dieta sin trigo. Mientras en Norteamérica otros autores prefieren seguir las prácticas de Sidney V Haas y su dieta de las bananas, con leche y leche suplementada con gelatina de caldo y un poco de carne. De los diez pacientes tratados, ocho mejoran espectacularmente y Haas publica en 1924 (García Nieto VM, 2013) los resultados atribuyendo todo el mérito a las bananas porque, según él, contienen una enzima especial capaz de hidrolizar el almidón. Si bien, creemos necesario señalar, que la no eliminación de las bananas en la dieta de Haas pudiera deberse también, entre otros aspectos, a la sustitución “económicamente obligada” de alimentos ricos en hidratos de carbono menos asequibles por su alto precio, tras la



crisis económica americana (<https://culturacientifica.com/2015/06/25/celiaquia-platanos-y-golpes-de-estado/>).

Tampoco puede descartarse, aunque no hay referencia de este hecho, que la inclusión de las bananas se debiera a la observación de una baja incidencia de EC en los consumidores de dichos alimentos.

En España hay autores como el pediatra Ángel Ballabriga que no se alejan de las teorías de Haas y publica en un artículo que es “es más importante la eliminación o restricción al máximo de los carbohidratos de la dieta que la eliminación o el dar una dieta pobre en grasa”, propone que el consumo de los carbohidratos sea en forma de disacáridos y retirar de la dieta cereales para “evitar o reducir al máximo la fermentación hidrocabonada, que serían los responsables de la diarrea y distensión abdominal” en su lugar aconseja dietas a base de bananas, algarrobas y babeurre (Ballabriga Aguado A, 1949)

El interés por esta patología sigue a lo largo del tiempo y en la primera mitad del siglo XX este interés se centra en los niños, debido tal vez a que responden más rápidamente que los adultos y de forma mucho más espectacular a los tratamientos dietéticos, son los pediatras los que consiguen mayores logros en el tratamiento de la enfermedad, sin embargo, en contrapartida los médicos de adultos conquistan los principales avances en el diagnóstico de la enfermedad celíaca

En el Reino Unido aparece la primera profesora de pediatría que es pionera en el campo de la gastroenterología, Charlotte Anderson (García Nieto VM, 2013; Losowsky MS, 2008), esta australiana junto con su equipo extrae el almidón y otros componentes de la harina del trigo en 1949 y confirma que el contenido de ese extracto es el causante del daño en los celíacos (Tommasini A y col., 2011). Con este descubrimiento se refuerza la teoría del pionero Dicke ya en 1950 y el tratamiento se basa en una DLG

Anderson demuestra que el gluten del trigo y del centeno es la sustancia responsable de los daños en la EC (Anderson CM y col., 1952) y esto lo hace en una publicación en 1952—Esta teoría se confirma en 1953 por los holandeses Weijers y Van de Kamer (Losowsky MS, 2008)

El médico inglés J.W. Paulley de Ipswich comunica a la Sociedad Británica de Gastroenterología en Birmingham la causa del síndrome celíaco, por otra parte, y conjuntamente con el descubrimiento de Dicke, Paulley encuentra una anomalía de la mucosa del intestino delgado en una intervención quirúrgica a un paciente celíaco; dicha anomalía consiste en la inflamación del intestino con pérdida de vellosidades (Paulley JW, 1954). Esta inflamación se observa varios pacientes de este médico inglés y de otros países como Estados

Dicha inflamación radica en la pérdida de proyecciones microscópicas o vellosidades. El conocimiento de este hecho es fundamental para el diagnóstico de la EC. Al ser estas vellosidades las responsables de la absorción de los nutrientes de los alimentos en el intestino para ser trasladados a la corriente sanguínea, su disminución conlleva alteraciones en la digestión en la publicación “Todo sobre la enfermedad celíaca” (Márquez Infante M, 2008).

Otro paso importante en el descubrimiento de esta patología se produce en 1962 cuando se descubre que el linfoma de intestino delgado es una consecuencia de la EC. Al día de hoy, se sabe que la EC está detrás de muchos de estos linfomas y otros tipos de cáncer (adenocarcinoma de intestino delgado, linfomas de esófago o de faringe) relacionados directamente con las ulceraciones que se producen en el intestino delgado debidas a la destrucción de las vellosidades intestinales (Catassi C y col., 2005).

En la década de los años 60 del siglo pasado se observa por primera vez que existe una tendencia a padecer la enfermedad dentro de una misma familia y se inician estudios de marcadores genéticos. Esta ‘tendencia familiar’ se muestra con especial claridad en gemelos monocigóticos, donde se da una concurrencia del 75% (Ellis J, 2002). Los primeros estudios en

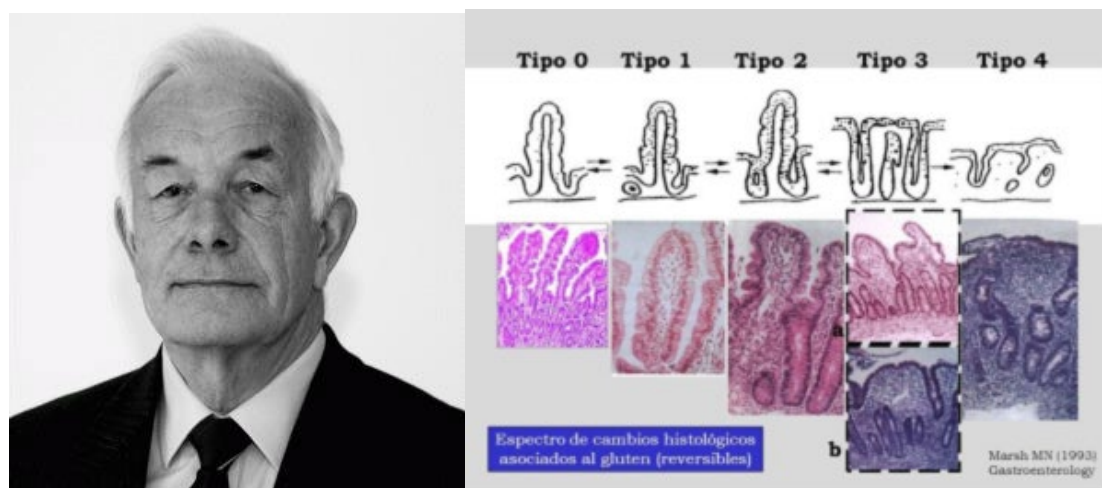


antígenos de leucocitos (antígenos de histocompatibilidad o HLA) sugirieron una relación con HLA B8 y más tarde mostraron una mayor prevalencia de A1 y B8 en celíacos que en controles, lo que evidenció que existe una minoría de celíacos que también tiene dichos HLA (Falchuk ZM y col., 1972; Stokes PL y col., 1972; Granditsch G y col., 1973).

Se observa la relación que existe entre genética y celiaquía, en concreto algunos haplotipos y conjunto de alelos de riesgo que se heredan juntos y hacen que sea más fácil la identificación de la relación entre mutación y enfermedad. Así hay una relación primaria entre EC y el heterodímero HLA-DQ a/b codificado por los alelos HLA-DQ2 (DQA1\*0501 y DQB1\*0201). En España y países colindantes el 90% de los pacientes con enfermedad celíaca y el 20% de los individuos sanos presentan dicho haplotipo. Además, la mayoría de los pacientes DQ2 negativos presentan el haplotipo HLA-DQ8 (DQA1\*0301 y DQB1\*0302) (Polanco I, 2008).

Aunque en 1958 se relaciona por primera vez la EC con una reacción inmunológica al detectar anticuerpos circulantes (Berger E, 1958) la relación entre EC y antígenos circulantes específicos no tiene lugar hasta 1983 (Chorzelski TP, 1983). Este hallazgo es crucial para utilizar técnicas de detección no invasivas y menos agresivas que las empleadas hasta entonces. De hecho, las pruebas serológicas son de gran utilidad para la identificación de enfermos celíacos, teniendo especial interés la identificación y cuantificación de IgA antiendomio por ser notablemente sensible (más del 90%) y específica (sobre el 90%) para EC. En 1997 se identifica a la transglutaminasa tisular como el antígeno en el endomio que actúa como autoantígeno responsable de la EC, sin embargo, quedan pendiente comprobar la posibilidad de la presencia de falsos positivos en otras lesiones intestinales (Losowsky MS, 2008).

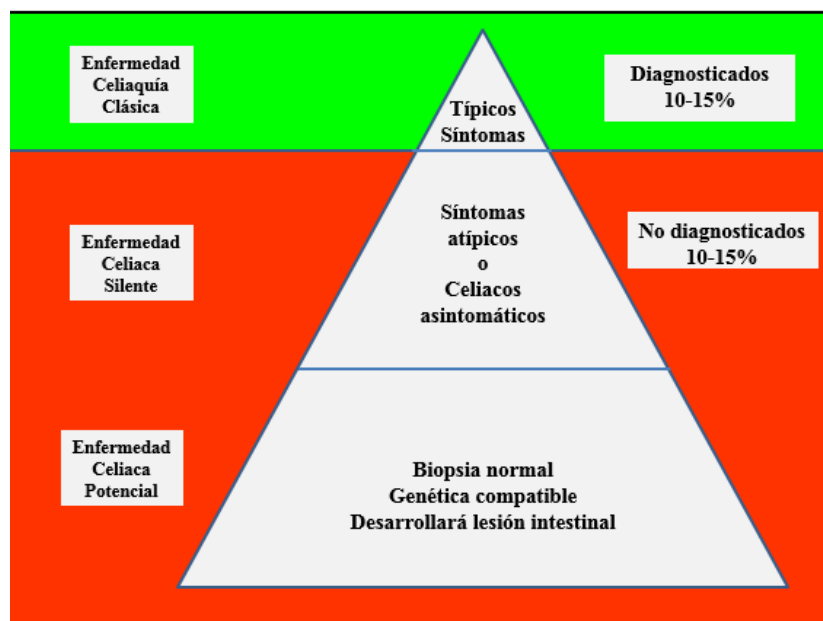
Otro hito importante en la EC se da en 1992, cuando el profesor Michael N. Marsh de Oxford y sus colaboradores investigan las lesiones duodenales desde un punto de vista histológico (**Figura 6**). Así establecen cuatro estadios (I a IV o 1 a 4) según la intensidad de la lesión y los daños en el tejido van desde unos cambios mínimos en las vellosidades hasta lesiones que afectan intraepitelialmente (March MN, 1993). Gluten sensitivity and latency: can patterns of intestinal antibody secretion define the great 'silent majority?'. *Gastroenterology*. 1993; 104(5):1550-



**Figura 6.** Profesor Michael Newton Marsh y la enfermedad celíaca. a) Michael Newton Marsh Foto de libre acceso; B) Estadios de Marsh dependiendo del grado de lesión de la mucosa intestinal asociados a la ingesta de gluten. 0: Mucosa pre-infiltrativa; I: Aumento de Linfocitos intraepiteliales; II: Hiperplasia de las criptas; III a: Atrofia vellositaria parcial; IIIb: atrofia vellositaria total; IV: atrofia vellositaria e hipoplasia críptica

<https://www.bing.com/images/search?q=Estadios+de+Marsh+fotos&go=Buscar&qs=ds&form=QBIDMH>

Paralelamente surge el concepto de ‘iceberg de la enfermedad celíaca’ (**Figura 7**). Esta expresión se utiliza para describir, muy gráficamente, la incidencia de la EC, donde la parte visible de ese alegórico iceberg serían los casos de EC diagnosticados donde los síntomas son prueba evidente de que se padece la enfermedad, mientras que la parte no visible del iceberg (y mucho más grande que la visible) serían los casos no diagnosticados donde la enfermedad se muestra silente o simplemente en un estado potencial de desarrollarse. Aunque en el esquema presentamos un iceberg con dos sesiones, se han propuesto diferentes tipos como el de Logan, Catassi, Mäki, Feighery con tres o más sesiones donde se detallan tipos de EC (clásica, silente, etc.,) diagnóstico, síntomas y tratamientos (Losowsky MS, 2008).



**Figura 7.** Representación simplista del “Iceberg de la enfermedad celíaca”

Modificado de [www.celicidad.net](http://www.celicidad.net) Celicidad APP.

La importancia del diagnóstico precoz de la enfermedad se basa en evitar las complicaciones que pueden sufrir los celíacos no tratados. Siendo la más grave el linfoma, pero hay otras muchas y además se puede dar la EC refractaria que tiene peor pronóstico

En 1968 se funda la sociedad celíaca del Reino Unido (originalmente Sociedad Celíaca) por Elizabeth Segall madre de un niño celíaco y Pedro Benenson, celíaco y uno de los fundadores de la organización de derechos humanos Amnistía Internacional, además el profesor Christopher C. Booth proporciona asesoramiento y asistencia médica inicial a dicha sociedad. En 1969 diversas organizaciones celíacas se establecen en California, Estados Unidos, y poco después en Canadá. Algunos años después se funda la Asociación de Sociedades Celíacas Europeas (AOECS). En Castilla la Mancha dónde se ha realizado este estudio la asociación de Celiacos se crea en 1997

El 25 de junio de 1994 se constituye la Federación de Asociaciones de Celiacos de España (FACE). FACE está constituida por 17 asociaciones de celiacos distribuidas por toda la geografía nacional. El objetivo fundamental de la FACE es coordinar el esfuerzo y la labor realizada por los miembros para defender sus derechos, con vistas a la unidad de acción y para un mejor logro de los fines comunes. Esta federación trabaja para mejorar la calidad de vida de las personas

celiacas y conseguir su integración social. Esto lo realiza a través del apoyo directo a las personas celiacas y sus familiares, la realización de campañas de difusión y concienciación, la investigación, y la seguridad alimentaria.

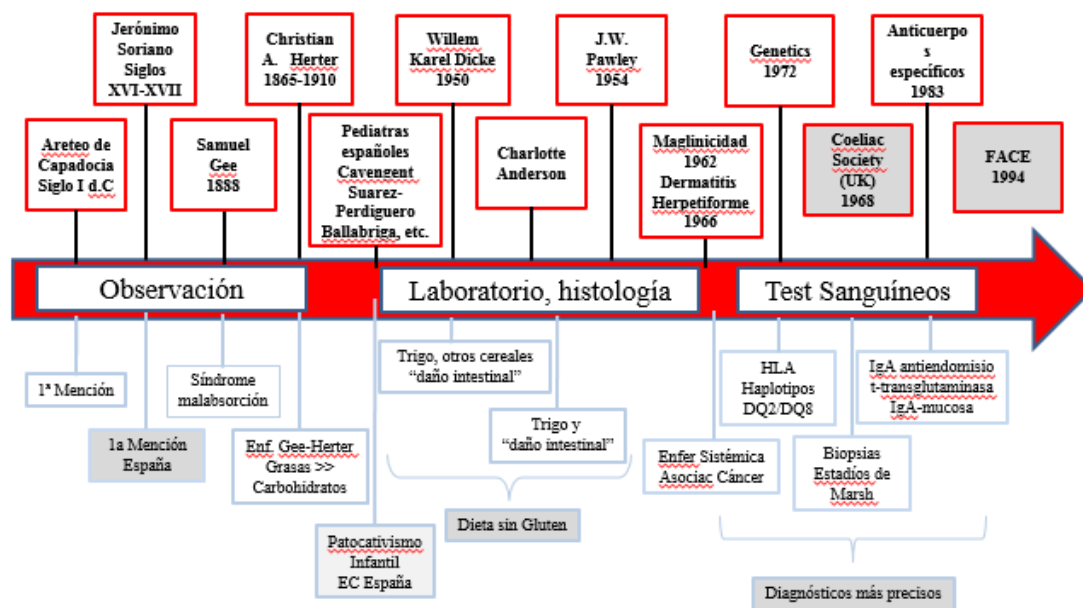
Dada la importancia y prevalencia de la EC, en 2008 el Ministerio de Sanidad y Consumo a través de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y presentan Nuevo Protocolo de Detección Precoz de la Celiaquía donde se incluye una guía detallada sobre Diagnóstico Precoz de la Enfermedad Celíaca, editada por la Dra. Polanco (Polanco I, 2008). Con esta guía se pretende que los profesionales sanitarios estén al tanto de todos los posibles síntomas en que puede mostrarse la celiarquía y así poder detectar más tempranamente esta enfermedad. Un diagnóstico precoz conlleva no solo ventajas para el paciente, lo más importante, sino un ahorro en el gasto sanitario y laboral.

En 2011 la detección de anticuerpos específicos en sangre crea una nueva definición de intolerancia al gluten. En concreto, la presencia de anticuerpos anti-transglutaminasa en sangre es la consecuencia de su aparición previa en la mucosa del intestino, dando lugar a un nuevo método de detección de EC, aunque la técnica para detectar este tipo de anticuerpos es sumamente compleja y aún no se la considera una práctica generalizada en clínica (Tommasini A y col., 2011; Molina-Infante J y col., 2015).

Como se comentó anteriormente, el tratamiento adecuado para la EC es una estricta dieta sin gluten, pero hasta la fecha evaluar el cumplimiento de dicha dieta es complicado pues no hay ningún método fiable que permita saber si la “Dieta sin gluten” se sigue de manera rigurosa. Además, muchos clínicos no son partidarios de que se realicen nuevas biopsias para el seguimiento de la enfermedad. Debe recalcar que tanto los cuestionarios rellenados por los propios pacientes, como las biopsias duodenales o la determinación de anticuerpos específicos no aportan una información detallada y por ello no son totalmente precisos para el dicho seguimiento de la “mejoría” de la enfermedad (Molina-Infante J y col., 2015; Moreno ML y col., 2017; Syage JA y col., 2018).

En palabras de Newnham (46) *“Una debilidad significativa de todos los estudios clínicos sobre enfermedad celíaca hasta la fecha ha sido la ausencia de una medida objetiva del cumplimiento dietético. Los anticuerpos celíacos, la histología intestinal y los síntomas son todas herramientas imperfectas para la evaluación de la adherencia”*.

Que no existan síntomas digestivos o que no se encuentren anticuerpos específicos no garantiza que la mucosa intestinal se esté recuperando. Además, la evaluación de esta mucosa mediante la técnica invasiva de la biopsia es muy complicada. Y es que la EC puede darse con cambios mínimos que no siempre van acompañados de degeneración de las vellosidades y por tanto son complicados de detectar, sin embargo, y como no podía ser de otra manera, la experimentación continúa y se sigue investigando en nuevos métodos de detección. De hecho, desde el año pasado se dispone de un método de detección de gluten en orina y/o en heces para uso de profesionales y que en el año en curso ya puede adquirirse para uso doméstico (Syage JA y col., 2018).



Francisco J. Sánchez-Muniz  
Hitos más importantes en la Celiaquía

**Figura 8.** Esquema donde se incluyen los personajes e hitos más importantes relacionados con la investigación de la enfermedad celíaca.

En la **Figura 8** hemos resumido el largo camino de la EC, señalando algunos de los personajes e hitos más relevantes. Queda ya muy lejos aquel siglo I d. C cuando Areteo de Capadocia diagnosticó muy básicamente la EC por primera vez, pero gracias a sus observaciones y al trabajo de quienes le sucedieron en el tiempo hoy se conoce mejor esta enfermedad pudiendo detectarla cada vez de manera más precoz, paliando en gran medida sus efectos deletéreos. La batalla contra la EC continúa, y si bien aún no se consigue derrotarla sí se la domina en la mayoría de los casos, consiguiendo una mejor calidad de vida para quienes la padecen.

Según recoge Márquez M (2008) en la publicación “Todo sobre la enfermedad celíaca” de la Consejería de Sanidad y Consumo y de la Asociación Celiacos de Madrid, la importancia de este descubrimiento radicaba en que en estos pacientes se observaba la pérdida de las proyecciones microscópicas o vellosidades, a través de las cuales se produce la absorción de los productos de la digestión de los alimentos hacia la corriente sanguínea.

## 1.2 El gluten y su procedencia.

El trigo, el cultivo más extendido, es enormemente diverso, existiendo más de 25.000 variedades diferentes en todo el mundo. Los humanos consumimos buena parte de la producción mundial de trigo, después de transformarlo en pan y otros productos horneados, pasta y fideos gruesos (*noodles*) y en Oriente Medio y África del Norte, en bulgur y cuscús. Además, la gran disponibilidad de harina de trigo y las propiedades funcionales de las proteínas

del gluten constituyen la base de su amplio uso como ingrediente en la transformación de los alimentos

El gluten es una proteína compleja y antigua que constituye el principal componente del trigo con una estructura primaria única rica en residuos de aminoácidos de prolina y glutamina. (Shewry PR y col., 2002). Por este motivo, el gluten es sumamente difícil de digerir. Con más de 150.000 genes, el trigo representa un cultivo sumamente complejo que evolucionó con el paso de los milenios hasta alcanzar sus características genéticas y estructurales actuales. La historia del ser humano y La evolución de los trastornos relacionados con el gluten están unidos con la evolución del trigo y el gluten: Cómo se desarrollaron, como continúan evolucionando y cómo afectan a la humanidad hoy en día en todo el mundo en todo el mundo en una variedad de síntomas y trastornos relacionados con su consumo.

Posiblemente, la introducción de granos que contienen gluten, que tuvo lugar hace unos 10.000 años con la llegada de la agricultura, representó un “desafío evolutivo” que creó las condiciones para la aparición de las enfermedades humanas relacionadas con la exposición al gluten. La alta frecuencia y la gran variedad de reacciones adversas al gluten plantean la pregunta de por qué esta proteína alimentaria es tóxica para tantas personas en el mundo. En primer lugar, es importante comprender que la selección de variedades de trigo con mayor contenido en gluten ha sido un proceso evolutivo, durante estos últimos 10.000 años, impuesto más por motivos tecnológicos que nutricionales. El gluten es un complejo de proteínas vegetales de reserva de escaso valor nutritivo, debido a su bajo contenido en lisina, que poseen propiedades funcionales únicas con un papel fundamental en la elaboración del pan y la pasta. La propiedad única de la masa formada a partir de las harinas de trigo es su viscoelasticidad, que permiten transformarla en una variedad de panes y otros productos horneados. Estas propiedades dependen de las estructuras y las interacciones de las proteínas del gluten. En una solución acuosa, las prolaminas del gluten (gliadinas y gluteninas) interactúan para formar una red de proteínas que atrapa el almidón y los gases durante la fermentación de la masa. La gliadina al separarse por técnicas electroforéticas se obtiene cuatro fracciones de peso molecular entre 20 y 75 kDa conocidas como  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , y  $\omega$ -gliadinas (He J y col., 2013). Todas ellas son tóxicas para los pacientes celíacos, demostrando *in vitro* la acción tóxica de las moléculas de la gliadina no digerida en la mucosa intestinal. Estas moléculas originan lesiones epiteliales a través del reclutamiento de linfocitos intraepiteliales (LIE) (Bernardo D y col., 2009).

El gluten estrictamente hablando tiene un contenido del 75-85% de proteínas y del 15-25% de lípidos e hidratos de carbono insolubles (Vaquero L y col., 2014).

Diversos estudios han demostrado que la gliadina pierde su efecto tóxico mediante ebullición durante 45 minutos en una solución normal de ácido clorhídrico. Durante este proceso se produce la transformación del 90% del aminoácido glutamina en ácido glutámico y amoníaco por la fragmentación reductora de los enlaces peptídicos. La toxicidad de la gliadina por lo tanto puede ser debido a la presencia de péptidos de glutamina, mientras que la fracción lipídica del trigo puede ser inofensivo (Weijers HA, 1960). Mediante ultrafiltración y la digestión trípica de la gliadina se demuestra que los péptidos tóxicos tienen un peso molecular entre 820 y 928 y que se compone de 6-7 aminoácidos (Van RJ, 1960).

Aunque cada tipo de trigo contiene diferente número de componentes de gliadina, la toxicidad de cada componente es desconocida. De hecho, cada proteína de gluten de los diferentes tipos de trigo puede tener un perfil de toxicidad único y secuencias estimuladoras de células T diferentes. Se ha postulado que las variedades antiguas de trigo, como la escanda y espelta, puede ser mejor tolerado por las personas con trastornos relacionados con el gluten que las cepas actuales (*triticum aestivum*) utilizados en la producción de alimentos (Barada K y col., 2012; L y col., 2005; Nakamura A y col., 2005). Hoy en día, el trigo sigue siendo una de las fuentes de alimentos más importantes en el mundo que contribuyen al 50% de las calorías en

los países industrializados y en desarrollo. El consumo mundial ha aumentado más rápidamente que cualquier otro cereal. Estos cambios son impulsados por un aumento de la renta disponible, la urbanización y las corporaciones transnacionales de la alimentación, así como las técnicas de venta y comercialización (Kearney J, 2010). El consumo anual de harina de trigo, per cápita, se estima en 132,5 libras por persona en los EEUU (Leonard MM y col., 2014). El aumento de la prevalencia de los trastornos relacionados con el gluten, y su existencia histórica, sugiere la creciente necesidad de explorar los granos con menores propiedades alergénicas y que pueden ser mejor tolerados. No hay un péptido específico que active la enfermedad en todos los pacientes. Entre los péptidos tóxicos identificados, el denominado 33-mer parece ser uno de los responsables de la reacción inmunitaria que se desencadena en el intestino de los pacientes celíacos. Este péptido contiene epítomos críticos ricos en glutamina y prolinaa, es resistente a las enzimas digestivas y atraviesa la barrera intestinal. Es modificado por la transglutaminasa tisular (transformando residuos de glutamina en ácido glutámico), confiriéndole gran afinidad con molécula HLA-DQ2, lo que constituye un *gatillo* para la reacción inflamatoria.

Hoy en día, el gluten es uno de los componentes alimentarios más abundantes y extendidos en la mayoría de las poblaciones, especialmente las de origen europeo. La mayor parte de su evolución, la especie humana basó su alimentación en productos que eran libres de gluten de manera natural. Este cambio revolucionario se produjo en el territorio conocido como Media Luna Fértil (Fig 3), que se correspondería con el Iraq moderno. Este avance en la agricultura se extendió de Sur a Norte y de Este a Oeste a una velocidad de alrededor de 1 km/año (Cavalli-Sforza LL y col., 1993).



**Figura 9.** Territorio de la Media Luna Fértil. En esta zona del Oriente Próximo, bien abastecida de agua dulce tuvo lugar, a partir del Neolítico, un desarrollo exponencial de la agricultura.

Creado a partir de <http://www.proel.org/img/alfabetos/medorien.gif>

En Europa, el consumo medio de gluten es de 10-20g/día, con segmentos de la población general que consumen hasta 50g/día de gluten o más. Junto con las proteínas de la carne (por ej mioglobina) y de la leche (por ejemplo, caseína), el gluten es la proteína más consumida por la mayoría de las personas en todo el mundo. Por lo tanto, todas las personas potencialmente predispuestas, incluso las que tienen un bajo grado de predisposición, tienen probabilidades de estar afectadas por alguna forma de reacción al gluten durante su vida.

En Estados Unidos, el tratamiento de estos trastornos se ha visto agravado por la ausencia de una política clara de etiquetado de los alimentos para identificar de forma clara los alimentos realmente sin gluten (Fasano y col., 2014).

En los países del norte de Europa, se permiten hasta 100 partes por millón (ppm) de gluten en los alimentos especiales para celíacos, para utilizar el almidón de trigo como ingrediente. En cambio, en Norteamérica y los países del sur de Europa, se ha adoptado un límite más prudente de 20 ppm. Además de la celiaquía y la alergia al trigo (AT), existen casos de reacciones al gluten en que no están implicados mecanismos alérgicos ni autoinmunes. En general, estos casos se definen como sensibilidad al gluten no celíaca (SGNC) o simplemente sensibilidad al gluten (Sapone A y col., 2012; Ludvigsson JF y col., 2013). Algunas personas que experimentan malestar cuando ingieren productos que contienen gluten y muestran una mejora cuando siguen una dieta sin gluten (DSG), pueden tener sensibilidad al gluten en lugar de celiaquía. Las personas sensibles al gluten no toleran el gluten y desarrollan una reacción adversa cuando lo consumen, que normalmente, y a diferencia de la celiaquía, no afecta al sistema inmunitario adquirido adaptativo y no da lugar a una lesión del intestino delgado. (Sapone A y col., 2010; Sapone A y col., 2011). Mientras que los síntomas digestivos en las personas sensibles al gluten pueden parecerse a los asociados a la celiaquía, el cuadro clínico global, en general, es menos grave y no va acompañado de la presencia de anticuerpos anti-tGA o enfermedad autoinmune. (Sapone A y col., 2012; Ludvigsson JF y col., 2013). La gliadina, también es capaz de debilitar las uniones intercelulares situadas entre los enterocitos (Clemente MG y col., 2003). Sin embargo, el principal mecanismo depende de la liberación de IL15 por parte de estos enterocitos en situación de estrés. Esta citoquina induce en los linfocitos intraepiteliales la expresión de NKG2D (Meresse B y col., 2004; Hue S y col., 2004) capaz de interactuar con su ligando, la molécula MIC-A de los enterocitos perpetuando

### **1.3. Generalidades sobre la enfermedad celíaca. Factores ambientales.**

Por lo tanto, la hipótesis formulada para explicar la patogénesis de las enfermedades autoinmunes abarca tres puntos clave:

1. Las enfermedades autoinmunes implican una falta de comunicación entre la inmunidad innata y adaptativa.

2. Las teorías autoinmunes clásicas, según las cuales es la estimulación continua con los antígenos no autónomos (desencadenantes ambientales) es lo necesario para que se de el proceso. Este concepto implica que la respuesta autoinmune puede ser detenida teóricamente y quizás invertida si se evita o elimina la interacción entre los genes predisponentes autoinmunes y el efecto desencadenante (gatillo)

3. Además de lo anteriormente expuesto, el tercer elemento clave para desarrollar autoinmunidad es la pérdida de la función protectora de las barreras mucosas que interfieren con el medio ambiente (principalmente la mucosa gastrointestinal) la EC representa el mejor testimonio de esta teoría, es un modelo único de autoinmunidad en el que, a diferencia de la mayoría de las otras enfermedades autoinmunes, hay una estrecha asociación genética con los



genes de antígenos de histocompatibilidad (HLA), una respuesta autoinmune humoral altamente específica contra la transglutaminasa tisular (tTG) y, lo más importante, el factor ambiental desencadenante (gliadina) son todos conocidos. (Fasano A., 2009).

Los pacientes con sensibilidad al gluten no tienen EC, pero si experimentan síntomas al comer alimentos que contienen gluten. Las características clínicas de la sensibilidad al gluten incluyen síntomas intestinales, comúnmente mal diagnosticados como síndrome de intestino irritable (SII), y manifestaciones extraintestinales, que se producen poco después del consumo de gluten y desaparecen rápidamente una vez que el paciente está en una DSG (Gasbarrini y Mangiola F., 2014)

A diferencia de la EC, SGNC puede mostrar signos de una respuesta inmune innata activada, pero sin datos de enteropatía, elevaciones en la transglutaminasa (tTG), anticuerpos antiendomiso (AEE) o anticuerpos antigliadina (AGA), y el aumento de la permeabilidad de la mucosa característica de EC. Autores como Biesiekierski, (Biesiekierski JR y col., 2011).

Se ha demostrado que los adultos celíacos afectados de EC toleran 50g diarios de avena sin sufrir recaída clínica si efectos adversos en la mucosa del intestino delgado, y que la ingestión de avena ni impide la recuperación de los pacientes recientemente diagnosticados de EC siempre que mantengan una dieta exenta de gluten. El contenido de prolamina de la avena es cinco veces inferior al existente en el trigo, centeno y cebada, lo que podría ser motivo de su ausencia de toxicidad). El poder tóxico de la avena y de su prolamina (avenina) en los pacientes celíacos es controvertido (García Peris y col., 2001)

### Otros factores dietéticos: Lactancia materna y edad de introducción del gluten.

Estudios observacionales sugieren que la introducción de pequeñas cantidades de gluten mientras el lactante está aún alimentado con lactancia materna reduce el riesgo de EC. No está claro si la lactancia materna retrasa el desarrollo de la enfermedad o realmente evita que ésta se desarrolle, la lactancia materna es uno de los elementos ambientales relacionado con el retraso en la presentación de la enfermedad o la reducción del riesgo de desarrollo de la misma (Ivarsson y Col., 2002). La protección ejercida por la leche materna puede ser fruto, tanto del efecto de sus componentes bioactivos (inmunoglobulinas, hormonas, compuestos antimicrobianos, prebióticos, etc.) (Kalliomaki y col., 2003) como de su influencia sobre el proceso de colonización microbiana del tracto gastrointestinal del recién nacido.

El sistema inmune de los recién nacidos es inmaduro comparado con el de los adultos, en los neonatos si no se consigue un adecuado equilibrio Th1/Th2 se puede favorecer el desarrollo de autoinmunidad y enfermedades inflamatorias, por ello, se realizan estudios de lactancia para ver los posibles beneficios, en nuestro estudio que es de población adulta les preguntamos por la duración de la lactancia materna. En la actualidad no existe consenso sobre los posibles beneficios de la lactancia materna.

La introducción del gluten antes de los 6 meses provoca un aumento en la incidencia de la EC (Vriezinga SL y col., 2013; Ludvigsson JF y col., 2012), pero también iniciar el consumo de alimentos que contienen gluten después de los 2 años origina un aumento de la incidencia, por pérdida de la tolerancia inmunitaria a los antígenos del gluten. Distintas infecciones por microorganismos entéricos como adenovirus enterocitario humano 12 o *Cándida albicans* pueden estar implicadas en la patogenia de la respuesta inmune por similitud de antígenos de los agentes patógenos con los antígenos del gluten.



En otro estudio se concluyó que tanto la introducción precoz (antes de los 3 meses) como la tardía (después de los 7 meses) de alimentos con gluten aumentaban el riesgo de desarrollar EC (Galbe Sanchez J, 2016)

En Suecia se observó un fenómeno similar cuando se recomendó la introducción tardía del gluten (después de los 6 meses). La incidencia disminuyó cuando de nuevo se recomendó su introducción a partir del 4 mes. También ejercía un papel protector si el paciente continuaba con lactancia materna una vez que ya se había introducido el gluten. Basandose en estos datos el comité de Nutrición de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, ESPGHAN) cree que es prudente evitar la introducción precoz (antes de los 4 meses) y tardía (después de los 7 meses) y recomienda introducir pequeñas cantidades de gluten mientras que el paciente está siendo amamantado.

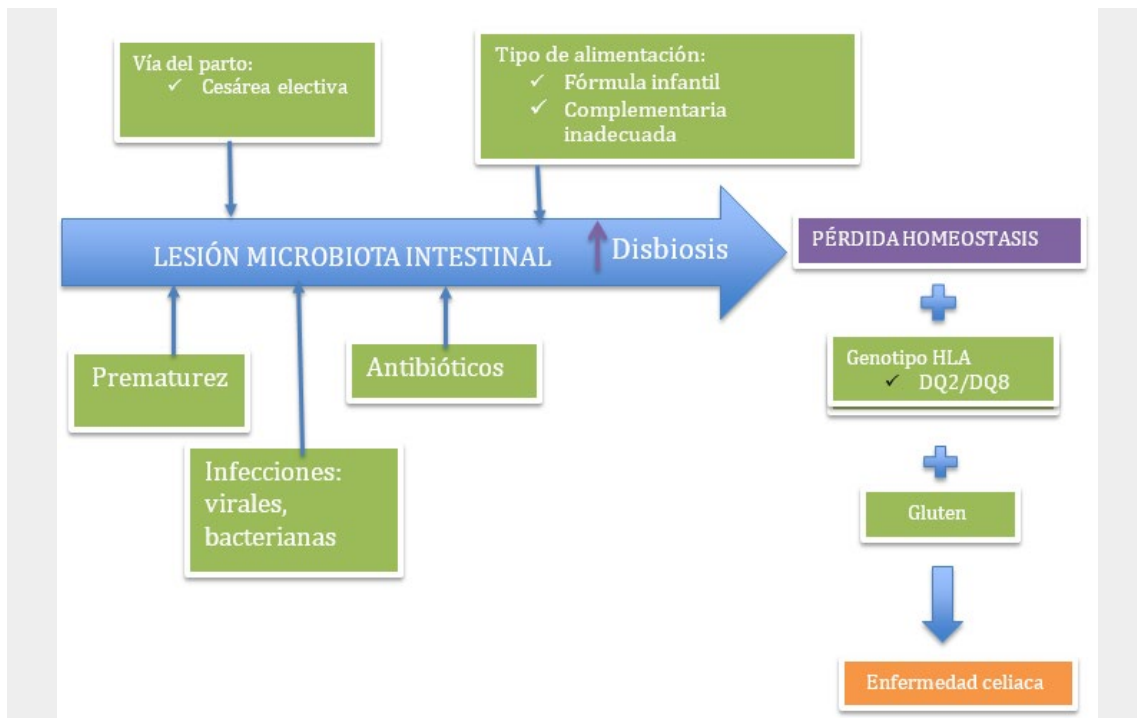
En la EC se ha demostrado que existen diferencias en la microbiota de pacientes tratados y no tratados, así como entre tratados y controles sanos. Estas variaciones se basan principalmente en la menor diversidad y distinta composición de la flora bacteriana de pacientes celíacos, en los que la proporción de *Bacteroides* y *Escherichia coli* estarían aumentados en los casos no tratados mientras que las especies de *Bifidobacterium* se encontrarían en menor cantidad, todo ello en relación a lo descrito en controles (Marietta E y col., 2012). Estos datos sugieren que la composición y diversidad de la microbiota jugarían un rol en la enteropatía dependiente de gluten.

La identificación de elementos ambientales que constituyan factores de riesgo es clave para el diseño de estrategias preventivas y terapéuticas, coadyuvantes o alternativas a la dieta exenta de gluten.

Por otro lado, dentro de los factores propios del individuo están los factores extrínsecos, donde los principales son el tipo de parto (natural o cesárea), la dieta, la historia clínica (enfermedades sufridas) y la toma de antibióticos del individuo, que en nuestro estudio se formularon en la anamnesis de los voluntarios.

La inmunidad adquirida. En el caso concreto de la EC, se ha sugerido el desarrollo de marcadores de autoinmunidad por similitud entre fragmentos inmunogénicos de las gliadinas y proteínas específicas de adenovirus, aunque no hay pruebas directas de ello. Asimismo, se ha postulado que las infecciones víricas podrían promover el aumento de la permeabilidad no selectiva y el contacto de los péptidos tóxicos del gluten con la transglutaminasa tisular (tTG) y las células del sistema inmunológico.

La inmunidad celular es la principal responsable del daño intestinal, son los péptidos derivados de la gliadina los que activan a los linfocitos T de la lámina propia e inducen la liberación de citoquinas proinflamatorias ((IFN- $\gamma$ ), también es importante el papel de las IL-10 y de las células T reg en la respuesta inmune celular, la IL-10 suprime la proliferación antígeno específica y la liberación de IFN- $\gamma$



**Figura 10** Esquema representativo de factores que influyen sobre la microbiota intestinal y consecuentemente, favorecen el desarrollo de Enfermedad Celíaca. Tomada de Gut microbiota and risk of developing celiac disease. J. Clin Gastroenterol (2016)

## Otros factores ambientales

Se trata de los factores infecciosos. Se ha demostrado homología entre la secuencia de la  $\alpha$ -gliadina y algunos serotipos de adenovirus (7 y 12), rubeola, y virus herpes simple 1 y con parásitos como el *plasmodium yoelii*. También el *campylobacter yeyuni* podría contribuir a la etiopatogenia de la enfermedad. Recientemente se ha propuesto al rotavirus como agente con capacidad para la introducción de la respuesta inmunitaria adaptativa específica de gliadina, lo que abre nuevas expectativas en el área de la prevención al disponer en la actualidad de vacunas frente al rotavirus.

### 1.4. Epidemiología.

Además, esta patología tiene una fuerte asociación genética. El haplotipo HLA-DQ2 lo presentan el 90% de los pacientes con EC, mientras el 5% de los celíacos muestran el haplotipo HLA-DQ8 (Barada y col., 2012); la importancia del componente genético de EC, se destaca además por el aumento de la prevalencia observada en los familiares de primer grado de los pacientes con EC entre el 10-25%. De esta forma la estrategia de cribado de la EC guiada por la presencia de un genotipado HLA compatible con la patología permite la identificación de un mayor porcentaje de sujetos con lesiones histológicas intestinales dentro del espectro de la enteropatía sensible al gluten (Vaquero y col., 2014). La importancia de este componente genético radica en su elevado valor predictor negativo, de tal manera que en ausencia de una genética de riesgo para la EC permite excluir el diagnóstico de esta patología. Sin embargo, aunque el 30% de la población general sea portadora de los haplotipos HLA-DQ2 o DQ8, sólo el 3% desarrollará la enfermedad (Ahn R y col., 2012).

La EC es el resultado de una respuesta inmunológica anómala al gluten mediada por linfocitos T y de base genética. Para el desarrollo de esta enfermedad son factores obligados el consumo de gluten y la predisposición genética, (HLA-DQ2 y HLA-DQ8) mientras que otros factores ambientales (dietéticos, infecciones bacterianas o virales, aumento de la permeabilidad intestinal, etc), actúan como desencadenantes (García Novo., 2007).

Los antígenos leucocitarios humanos (HLA), son proteínas que se encuentran en la cubierta exterior (membrana) de casi todas las células de nuestro organismo, siendo su concentración más alta en la superficie de los glóbulos blancos. Estos antígenos, son las principales herramientas del sistema inmune para el reconocimiento de las sustancias que nos llegan, determinan los caracteres propios del individuo y ponen en marcha la respuesta inmunitaria contra cualquier agresión externa. Concretamente, en la susceptibilidad al desarrollo de EC, el heterodímero HLA\_DQ2 tiene un papel dominante por su implicación patogénica, ya que los péptidos derivados de la degradación parcial del gluten tienen una mayor afinidad por esta molécula. Estos péptidos se unen a la molécula HLA\_DQ2 y esta unión es reconocida por los linfocitos T reactivos, que desencadenan La respuesta inmune. La molécula HLA\_DQ8 actúa igual que la DQ2.

Con el tiempo se han apreciado cambios significativos en la prevalencia de la EC, pues debe tenerse en cuenta que ésta es el resultado de la interacción de un condicionamiento genético con factores ambientales; los cambios en la alimentación, el tiempo de lactancia materna, la menor antigenicidad de las fórmulas y la introducción retardada del gluten pueden explicar, por un lado, un descenso aparente en la incidencia de la EC y, por otro, la aparición de formas atípicas de EC en niños mayores y adolescentes (Gil Hernández, A y col., 2010).

La investigación de EC asintomática o silente se ha realizado en individuos de riesgo (como familiares de primer grado) o en individuos normales (donantes de sangre o población escolar) por métodos de cribado (screening). La prevalencia de la enfermedad no diagnosticada es muy superior a la de la enfermedad diagnosticada. La EC silente es variable dentro de los distintos países europeos, pero parece oscilar entre 3:1.000 a 4:1.000. Entre los donantes de sangre, la prevalencia de EC asintomática representa valores de hasta 1:201. (Gil Hernández, A y col., 2010)

En un estudio clave realizado por (Fasano y col., 2003) Halló que la prevalencia de la EC era como sigue:

Pacientes de primer grado	1:10
Pacientes de segundo grado en riesgo	1:39
Pacientes sintomáticos en riesgo	1:56
Grupos no en riesgo	1:13

La prevalencia de EC entre familiares de primer grado, es del orden del 10%. El estudio se basa en una analítica en la que se determinan los anticuerpos antitransglutaminas (tTG) y una cuantificación de la IgA.

A los familiares DQ2 o DQ8 (+) que presenten clínica o serología positiva, se les debe realizar una gastroscopia con biopsia duodenal (Rodrigo Saez L, 2007)

En los niños predominan los síntomas típicos de la EC (diarrea, distensión abdominal y retraso del crecimiento), superiores títulos serológicos y una mayor severidad de las lesiones histológicas; en contraposición en los adultos destaca la presencia de formas clínicas oligosintomáticas con una menor repercusión serológica e histológica (Vivas S y col., 2008; Gujral N, 2012; Vivas S y col., 2003)

## Grupos de riesgo.

Son grupos de riesgo los familiares de enfermos celíacos y los pacientes con otros procesos patológicos asociados a EC. Estos procesos asociados a la EC suelen precederla, aunque también pueden manifestarse simultáneamente e incluso después del diagnóstico de la EC. Los pacientes que las padecen son considerados grupos de riesgo, debido a que su asociación se produce con una frecuencia superior a la esperada.

### 1.5. Predisposición genética.

La EC es una enfermedad poligénica en la que se encuentran descritas, entre otras, asociaciones con los genes del sistema principal de histocompatibilidad (HLA), localizados en el cromosoma 6 (6p21). El 90-95% de los celíacos presentan el heterodímero HLA-DQ2 (codificado por los alelos DQA1\*0501, DQB1\*0201), asociados en posición cis a DR3 (más común en centro y norte de Europa) o en posición trans en heterocigotos DR7/DR5 (más frecuente en países mediterráneos). En el 5-10% restante se encuentra el heterodímero HLA-DQ8 (codificado por los alelos DQA1\*0302, DQB1\*0302), mayoritario en indígenas de Sudamérica, asociado normalmente a DR4 (DRB1\*04). Estos alelos están presentes en más del 95% de los pacientes con EC y aproximadamente el 30% de la población general es DQ2. Los pocos pacientes celíacos que no son ni DQ2 ni DQ8 tienen algún alelo de riesgo. Por otra parte los haplotipos (HLA-DQ2y HLA-DQ8) sólo pueden explicar el 40% de la susceptibilidad genética; además, menos del 2% de las personas que portan este HLA desarrollan la EC, por lo que HLA-DQ2 y HLA-DQ8 son necesarios pero no suficientes para el desarrollo de la EC (Gil Hernández, A y col., 2010).

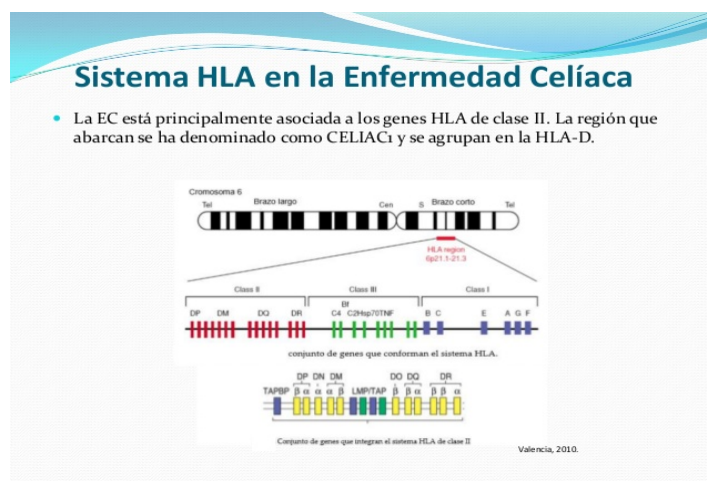
En los últimos años se han realizado numerosos estudios de cartografiado genómico en diferentes poblaciones con el fin de encontrar nuevos genes no HLA que pudieran estar implicados en la enfermedad. Los resultados han señalado cuatro regiones cromosómicas principales denominadas regiones CELIAC. CELIAC 1:cromosoma 6 (6p21.3), comprende los genes del sistema HLA\_II; CELIAC 2:cromosoma 5 (5q31-33),abarca genes que codifican moléculas implicadas en la activación de los linfocitos T y desencadenan la respuesta inmunitaria y diferenciación celular, como interleuquinas y otras moléculas de carácter proinflamatorio; CELIAC 3:cromosoma 2 (2q33), contiene los genes CD28, CTLA4 e ICOS, implicados en la regulación de la activación de los linfocitos T y CELIAC 4:cromosoma 19 (19p13.1), que ha sido descrita recientemente y contiene genes implicados en la remodelación del citoesqueleto, como MYO9B. También se han llevado a cabo estudios genéticos en los loci TNF $\alpha$ , LT $\alpha$ , y FOXP3, por su cercanía a las regiones anteriores, sin llegar a conclusiones definitivas: los estudios de los genes situados dentro de las regiones CELIAC 2, 3 y 4 no han sido reproducidos por igual en todas las poblaciones, así que sólo existe consenso y reproducibilidad cuando se habla de los genes HLA (Gil Hernández, A y col., 2010).

En ocasiones, la enfermedad puede empezar a manifestarse tras una intervención quirúrgica, embarazo, infecciones virales (principalmente se ha implicado el adenovirus 12).

La inmunidad celular tiene un papel importante pues existe infiltrado de células plasmáticas, linfocitos y macrófagos en la lámina propia y de linfocitos en el epitelio, también se da una respuesta humoral en los celíacos no tratados. Las células plasmáticas de la mucosa producen anticuerpos IgA, IgG e IgM dirigidos contra las proteínas del grano y contra autoantígenos del tejido conectivo (anticuerpos antirreticulina, AEE y tTG). Debido a que aproximadamente el 30% de la población sana es portadora del haplotipo DQ2, en la última década se ha dado especial importancia al estudio genético de la EC, con el fin de encontrar nuevos marcadores genéticos que ayuden al diagnóstico. Los anticuerpos antigliadina ocurren

en otras enfermedades intestinales, pero los anticuerpos contra el tejido conectivo son altamente específicos de la EC. Además existe una mayor frecuencia de la enfermedad en pacientes con otras patologías autoinmunes como la diabetes tipo1, enfermedades tiroideas, enfermedad de Addison, artritis reumatoide, etc.

Otro aspecto interesante es que los pacientes con EC presentan en una elevada proporción una respuesta inadecuada a la vacuna contra la hepatitis B. Esta respuesta a la vacunación de la hepatitis B está condicionada inmunogenéticamente por múltiples genes, siendo particularmente importantes ciertos haplotipos de HLA. Varios estudios muestran que las personas (celíacas o no) portadoras de haplotipos HLA tipo B8, DR3 y DQ2 tienen menor respuesta a la vacuna contra VHB. Los pacientes con EC presentan en un porcentaje muy alto (90-95%) el haplotipo HLA-DQ2. Existe alta tasa de pérdida de respuesta sostenida o respuesta negativa a la vacuna contra VHB en pacientes con EC cuando están tomando dieta con gluten. Este estado de no responder a la vacunación frente a VHB no es permanente y mejora tras la DSG. La revacunación está, por lo tanto, recomendada en este grupo de pacientes tras el tratamiento con exclusión de gluten (Narváez y col., 2003)



**Figura 11.** Sistema HLA en la enfermedad celiaca

Tomada de Linsay Aguilar, Microbiología en Hospital Escuela

En el desarrollo de la EC se desencadena un estrés oxidativo, mediado principalmente por la formación de óxido nítrico, que origina la inducción de la enzima óxido nítrico sintetasa (iNOS) (en los enterocitos (Beckett CG., 1999; Murray IA y col., 2002; Daniels I y col., 2005; De Stefano D y col., 2006) que provoca la expresión en estas mismas células de ligandos como MIC-A. (Martin-Pagola A., 2004)

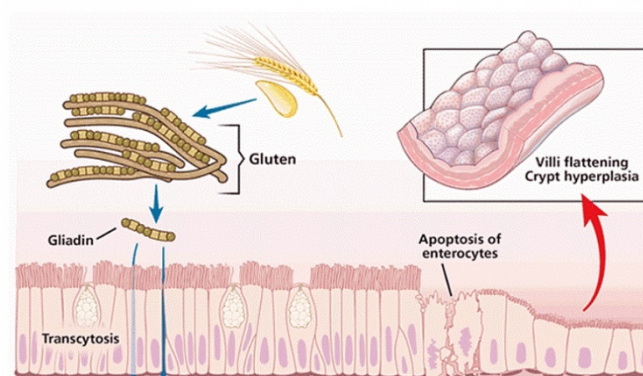
El daño intestinal. La unión entre NKG2D y MICA induce apoptosis de los enterocitos, llevando a la desaparición de las microvellosidades y aplanamiento del epitelio intestinal. Con ello se activan fenómenos de citotoxicidad en el epitelio, que junto con el debilitamiento de las uniones intercelulares, contribuye a un aumento de la permeabilidad intestinal y el paso del gluten hasta la lámina propia, donde se desencadena la respuesta adaptativa.

La respuesta inmune adaptativa está mediada por linfocitos T específicos, previa presentación antigénica por las células presentadoras de antígenos portadoras de elementos de restricción HLA-DQ2/DQ8. Los macrófagos (20%) y sobre todo las células dendríticas (CDs)

(80%), son las principales células presentadoras de antígenos (CPAs) de la lámina propia y están incrementadas en la lesión celíaca en actividad (Raki M y col., 2006).

Estas CPAs son a su vez activadas como consecuencia de la inducción de IL15 derivada de la respuesta innata (Yoshimura S y col., 2001; Ouaz F., 2002; Ohteki T y col., 2006). Los linfocitos TCD4+ de la lámina propia reconocen fragmentos de gluten como  $\alpha$ -gliadina presentados en el contexto de moléculas HLA-DQ2 o DQ8, (Raki M y col., 2006; Mowat AM., 2003).y tras ser modificados por la enzima transglutaminasa 2 (tTG2) (Anderson RP y col., 2000; Arentz-Hansen H y col., 2002). Por tanto, el efecto final estará mediado por linfocitos TCD4+ responsables de una respuesta dominada por citoquinas proinflamatorias como IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL18, IL15, etc y un descenso proporcional de citocinas reguladoras o anti-inflamatorias IL-10 y TGF $\beta$  (Nilsen EM y col., 1998; Leon AJ y col., 2006).

Este perfil pro-inflamatorio será el implicado en última instancia en los mecanismos de remodelación tisular como la hiperplasia de las criptas típica de la EC, la atrofia de las vellosidades intestinales y la activación de linfocitos B que estimulan la producción de anticuerpos (MacDonald TT y col., 1999). En resumen se puede afirmar que la gliadina tiene un efecto dual en el intestino de los pacientes celíacos, siendo imprescindible la activación de la respuesta inmunológica innata para que se desencadene la respuesta adaptativa en individuos susceptibles (Jabri B y col., 2006).



**Figura 12.** Efecto del gluten en los enterocitos

Web: <https://www.mdedge.com/familymedicine/article/107369/hepatology>

## 1.6 Criterios diagnósticos de la Enfermedad celíaca.

El diagnóstico de la celiacía y la AT se basa en biomarcadores específicos y sensibles.

En la celiacía, la activación de la respuesta inmunitaria adaptativa parece que va precedida de una alteración en el procesamiento enzimático intraluminal, alteraciones en la permeabilidad intestinal y la activación de mecanismos de la inmunidad innata (Fasano A, 2009; Maiuri L y col., 2003; Schulzke JD y col., 1998).

Basándose en los datos publicados en la bibliografía y en el mapeo de los epítomos de gliadina, (Fasano A, 2011) cabe la posibilidad de plantear como hipótesis que en los trastornos

relacionados con el gluten tiene lugar la siguiente secuencia de acontecimientos: tras la ingestión oral, la gliadina interactúa con la mucosa del intestino delgado, lo que provoca la liberación de IL-8 de los enterocitos (Péptido 261-277), que lleva al reclutamiento inmediato de neutrófilos en la lámina propia. Al mismo tiempo, los péptidos permeables de la gliadina 111-130 y 151-170 incrementan la permeabilidad intestinal mediante la liberación dependiente de MyD88 de zonulina a través de la activación de CXCR3, (Lammers KM y col., 2008) que permite la translocación paracelular de la gliadina y su posterior interacción con los macrófagos (a través de 33-mer y otros péptidos inmunomoduladores) en la submucosa intestinal, desencadenando la respuesta inmunitaria innata (incluida la producción de IL-15) que causa lesión tisular inicial. Parece que estos pasos son comunes a todos los trastornos relacionados con el gluten.

En la celiacía, estos acontecimientos inician la señalización a través de una vía dependiente de MyD88 pero independiente de TLR4 y TLR2 (Thomas KE y col., 2006) lo que se traduce en el establecimiento de un ambiente proinflamatorio mediado por citocinas (de tipo Th1) que tiene como resultado la infiltración de células mononucleares en la submucosa. La agresión resultante de la mucosa lleva a la expresión apical del receptor de transferrina, (Matysiak-Budnik T y col., 2008; Matysiak-Budnik T y col., 2003) que potencia el transporte de gluten a través de la mucosa intestinal por la vía transcelular. La presencia persistente de mediadores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y el interferón  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) provoca un aumento adicional de la permeabilidad a través de las capas endotelial y epitelial, (Turner JR, 2006) lo que deja entrever que la alteración inicial de la función de la barrera intestinal provocada por la zonulina puede perpetuarse por el proceso inflamatorio después del acceso de la gliadina a la submucosa. En personas con predisposición genética, esto a su vez, puede permitir la interacción de los linfocitos T con células presentadoras de antígeno en el contexto del HLA-DQ2 o HLA-DQ8, incluidos los macrófagos, lo que al final lleva a que esta respuesta autoinmune de la mucosa intestinal, propia de los pacientes con EC.

Para el diagnóstico de la enfermedad se siguen los criterios que la sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, ESPGHAN) establecidos en 1990. Se establece un diagnóstico positivo en función de una biopsia intestinal compatible al inicio de la sospecha diagnóstica, seguida de una mejoría clínica importante al iniciar una dieta sin gluten. La presencia de AAG y tTGA apoya el diagnóstico y sirve para el control evolutivo de la enfermedad (Gil Hernández y col., 2010).

El estudio histológico de la biopsia duodenal se realiza según la clasificación de Marsh-Oberhuber (Oberhuber G y col., 1999) permite diferenciar diferentes lesiones desde incremento de los LIE hasta atrofia intestinal establecida. En el pasado era necesaria la obtención de 4-6 biopsias de 2-3ª porción duodenal y una biopsia de bulbo duodenal.

La presencia de anticuerpos positivos AAG y contra el tejido conectivo apoyan el diagnóstico, y puesto que desaparecen al instaurarse la dieta adecuada, sirven para el seguimiento de la enfermedad y comprobar la adherencia a la dieta prescrita.

En 1969 en Interlaken, se establecieron los criterios ESPGHAN para el diagnóstico de EC. Se precisaba la realización de 3 biopsias intestinales, la primera al tiempo de la sospecha diagnóstica, que mostrase atrofia subtotal de vellosidades e hiperplasia críptica; la segunda considerada biopsia de control, para comprobar la normalización histológica, tras 2 años sin gluten, y por último, la tercera y definitiva biopsia intestinal tras agresión con gluten, para demostrar la recaída histológica.

En 1979 fueron revisados los criterios de Interlaken, aunque no modificados, pese a que en ese momento sólo 2/3 de los miembros de los ESPGHAN realizaban la provocación y ya se sugería que la realización de las 3 biopsias intestinales no era necesaria en todos los pacientes.

En 1986 en Budapest, se llevó a cabo una nueva revisión de los criterios diagnósticos. En este momento, debido a la experiencia acumulada en el abordaje de este grupo de pacientes

junto con el desarrollo de nuevas pruebas serológicas que representaban de forma más fehaciente la sensibilización al gluten, se consensuó modificar los criterios iniciales. Para el diagnóstico de EC se precisa el hallazgo, mientras está tomando gluten, de una biopsia intestinal patológica que muestre atrofia vellositaria e hiperplasia críptica, y una completa remisión clínica tras la retirada de gluten en la dieta. La evolución de los marcadores serológicos antigluten ayudan a la firmeza del diagnóstico: inicialmente anticuerpos positivos que se negativizan tras la retirada del gluten. Estos criterios renovados contemplan, por lo tanto, la realización de sólo una biopsia intestinal, salvo en determinadas ocasiones en las que se requiere la demostración de normalidad histológica. Este es el caso de los pacientes asintomáticos que presentan lesión histológica sugestiva de EC, como ocurre en determinados familiares de primer grado o en aquellos diagnosticados durante un programa de detección sistemática en donantes de sangre o en población escolar supuestamente sana.

Estos criterios abreviados no consideran obligatoria la agresión con gluten para comprobar el carácter permanente de la enfermedad, excepto en determinadas circunstancias en las que se duda del diagnóstico inicial, por ejemplo, si no se ha realizado biopsia intestinal inicial, cuando la muestra de biopsia es insuficiente, está artefactada o no es completamente típica de EC, también se recomienda la agresión con gluten, cuando se efectúa el diagnóstico antes de los 2 años de edad, pues en ese periodo pueden existir otras situaciones que también provoquen mucosa plana (enteropatía por intolerancia a proteínas de leche de vaca, giardiasis y síndrome postenteritis).

Se aconseja que la provocación con gluten se efectúe a partir de los 6 años y antes del brote puberal, para evitar las complicaciones descritas por agresión con gluten en los más pequeños y durante el brote puberal (defectos en el esmalte dental en los incisivos permanentes y detención en el crecimiento). Habitualmente se requiere un periodo de agresión de 3-6 meses pues la mayoría de los pacientes celíacos refieren recaída clínica y/o analítica (AAG, AAE, tTG).

En la actualidad se asiste a un gran desarrollo del estudio genético y de las pruebas serológicas, que ha contribuido a que estos criterios se hayan dejado de aplicar en casos seleccionados. Con poca frecuencia se realiza más de una biopsia intestinal y, aunque no es la normal ni el criterio mayoritario, algunos centros han dejado de realizar biopsia intestinal en los pacientes con sospecha de EC, ya que han comprobado que un título determinado de tTG presenta un valor predictivo positivo del 100%. Esto supone que un paciente con tTG positivos por encima de un determinado valor de corte junto con AAE positivos, HLA-DQ2 o HLA-DQ8 y síntomas sugestivos de EC puede beneficiarse de la no realización de biopsia intestinal. El criterio de hallazgo histológico típico de EC (atrofia vellositaria e hiperplasia críptica) también está en desuso, ya que como se explicó anteriormente, cualquiera de los cuatro tipos histológicos puede acontecer en pacientes celíacos.

En 2012 la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) estableció los criterios diagnósticos de la EC en la edad pediátrica que puede evitar en algunos casos la realización de biopsia duodenal. Estos criterios están resumidos en la **Tabla 1**.

Carlo Catassi publicó recientemente su regla 4 de 5, de acuerdo con la última revisión de la ESPGHAN. Estos postulados intentan optimizar el diagnóstico de la EC. Indican que para conseguir el diagnóstico de la EC es preciso presentar cuatro de las siguientes características presentadas en la **Tabla 2** (en ausencia de genotipado de riesgo es suficiente cumplir tres de ellas.)



**Tabla 1.** Criterios de diagnóstico de la EC propuestos por la ESPGHAN

1. Historia y presentación clínica compatible con EC
2. Test serológicos compatibles con EC unos tTG 10 veces superiores al valor de referencia y AAE positivos.
3. Genotipado de riesgo para la enteropatía sensible a gluten
4. Histología compatible EC. La biopsia intestinal no es necesario de realizar en todos los niños, sólo en aquellos en los que las determinaciones serológicas no sean concluyentes.
5. Evidencia de respuesta de una clínica histológica y serológica a la dieta sin gluten.
6. Sujeto mayor de 2 años
7. Exclusión de otras condiciones que imitan a la EC

AAE, antiendomiso; EC, enfermedad celiaca; tTG, antitransglutaminasa.

**Tabla 2.** Criterios propuestos por Catassi y Fasano para el diagnóstico de EC

1. Síntomas típicos de EC
2. Anticuerpos de clase de IgA específicos de EC a títulos altos (de tipo IgG en caso de déficit de IgA).
3. Genotipo HLA-DQ2 o DQ8
4. Enteropatía compatible con EC en la biopsia duodenal
5. Respuesta a la DSG

EC, enfermedad celiaca; IgA, antigliadina IgA; IgG, antigliadina IgG; DSG, dieta sin gluten.

## Pruebas serológicas

La ayuda del laboratorio en el diagnóstico de la EC se basa en la actualidad en las pruebas serológicas por su alta sensibilidad y especificidad. Los AAG son predominantemente de clase IgA e IgG y en menor proporción, IgM.

En términos generales los AAG-IgG son de mayor sensibilidad y los AAG-IgA los de mayor especificidad. En el intestino predominan los AAG de clase A y M, conformando el denominado “patrón intestinal”, que por su elevada especificidad se considera que podría ser utilizado como marcador de EC latente.

Los AAG-IgA tienen una sensibilidad del 75-90% y una especificidad del 82-95%. Se determinan mediante una prueba de ELISA automatizada. El déficit de IgA es la principal causa de falsos negativos de AAG-IgA, recurriendo en estos casos a la determinación de AAG-IgG, cuyo único inconveniente es su escasa especificidad. Los falsos positivos se observan en gastroenteritis aguda, diarrea crónica inespecífica enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome de Down o fibrosis quística. Son útiles en niños menores de 2 años y en el seguimiento de la DSG. Recientemente se han desarrollado AAG-II frente a péptidos de gliadina sintética desamidados, pero no han demostrado mayor efectividad que los tTGA.

Los AAE se estudian mediante inmuno-fluorescencia y analizan el mismo sustrato, que es la transglutaminasa tisular (tTG) del tipo 2, por lo que presentan la misma fiabilidad diagnóstica, y puesto que su determinación es engorrosa y cara, hacen que sólo se determinen estos últimos en la práctica clínica habitual. Los AAE poseen una sensibilidad del 85-98% y una especificidad del 97-100%. Son preferentemente de clase IgA y van dirigidos contra la sustancia interfibrilar del músculo liso (endomisio) del esófago de primate y también contra otros sustratos como esófago humano y cordón umbilical. Se determinan con técnicas de inmunofluorescencia. Es una prueba cara y dependiente del observador. Los pocos resultados falsos negativos ocurren en niños de menos de 2 años de edad. Son especialmente útiles en la investigación de individuos de riesgo como los familiares de primer grado y también para la monitorización de la agresión con gluten como un buen factor predictivo de recaída en los adolescentes.

La positividad de los AAE sin correlación con daño histológico puede ser un factor predictivo precoz del desarrollo de EC. Este grupo de pacientes deberá ser sometido a seguimiento y nuevas biopsias, sobre todo si presenta AAG positivos o antecedentes familiares de EC. En la infancia, durante el periodo de provocación, los AAE se positivizan más tardíamente que los AAG. Con la dieta exenta de gluten los AAE tardan más tiempo en normalizarse que los AAG-IgA, menos de 6 meses.

De los estudios analíticos se utilizan de forma rutinaria los tTGA de tipo IgA que se determinan por ELISA, los tTGA-IgA tienen una sensibilidad del 90-98% y una especificidad del 94-97%. Aportan la ventaja de ser una técnica más fácil que la de los AAE, por no verse influida por la presencia de anticuerpos antinucleares o antimúsculo liso y por no depender de la interpretación subjetiva del que observa al microscopio la imagen fluorescente. También está disponible la determinación de tTGA para el cribado de EC, pero esta actitud de consenso puede infradiagnosticar casos de EC, especialmente en menores de 24 meses, en quienes los AAG pueden ser positivos siendo los tTGA y AAE negativos.

Aunque la IgA sérica suele estar elevada, la determinación de la IgA sérica total, simultáneamente a la de tTGA, AAE o AAG, permite disminuir la proporción de falsos negativos, dado que los enfermos celíacos asocian un déficit selectivo de IgA con mayor frecuencia que la población general. En el caso de déficit de IgA, se solicitarán los anticuerpos de clase IgG.

## Biopsia duodenal histológica.

Actualmente el “gold estándar” para el diagnóstico de la EC es la biopsia duodenal. Los procedimientos serológicos permiten identificar a los sujetos que pueden beneficiarse de la biopsia duodenal. Actualmente las pruebas serológicas utilizadas son los anticuerpos antitransglutaminasa (tTG), antiendomisio (AAE), y los péptidos de gliadina deaminados (DGP). Se utilizan los anticuerpos IgA e IgG para permitir diagnosticar la enfermedad en el déficit selectivo de IgA. Los AAE y tTG ofrecen una sensibilidad y especificidad mayor del 95%. Sin embargo se utilizan preferentemente los tTGA al ser más rentable desde el punto de vista económico. Las pruebas genéticas para los marcadores de susceptibilidad HLA están disponibles, pero limitados a determinar si un paciente presenta un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad. Dado su elevado valor predictivo negativo nos permiten descartar la presencia de la EC.

La biopsia intestinal de estos pacientes es típica pero no diagnóstica, pues la lesiones similares pueden aparecer en pacientes con otras enfermedades (agammaglobulinemia, esprúe tropical, enfermedad injerto contra huésped, linfoma intestinal, etc.). La lesión típica consiste en una mucosa plana, con desaparición de las vellosidades intestinales, e hipertrofia de las criptas, y presencia de un infiltrado inflamatorio con linfocitos, células plasmáticas y macrófagos

en la lámina propia y en el epitelio de la mucosa intestinal. Los hallazgos de la biopsia duodenal deben ser interpretados con detalle, por un patólogo experto e interesado en el diagnóstico de esta enfermedad, siguiendo los criterios de Marsh modificados, que clasifica esta enfermedad en 4 tipos o estadios. Las biopsias habitualmente se toman por endoscopia.

El yeyuno era el lugar elegido históricamente para la obtención de muestras de intestino delgado. Se obtenían muestras mediante cápsula de Watson o de Crosby. Desde hace varios años, este procedimiento se ha sustituido en la mayoría de los centros por la endoscopia y la toma de las muestras se lleva a cabo en regiones más proximales. Quizá la mayor ventaja de la cápsula sea la facilidad de colocación en el lugar de obtención de la muestra. Además, la pieza obtenida suele ser de buena calidad, con un tamaño adecuado (unos 5-6 mm), que permite su utilización para otras técnicas, como la determinación de disacaridasas; es fácil de orientar para su examen anatomopatológico y tiene una adecuada preservación del epitelio vellositario y de la mucosa completa (incluida la capa muscular de la mucosa), lo que facilita su interpretación. Entre sus inconvenientes, se debe destacar que la colocación puede resultar molesta para el niño por realizarse con sedación superficial. Además, el tiempo de espera hasta la progresión final de la cápsula a veces se alarga, siendo incluso necesario el uso de procinéticos para conseguir el paso a través del píloro. Un tercer inconveniente sería la necesidad del uso de controles radioscópicos para monitorizar la posición de la cápsula. Por último, en raras ocasiones, es imposible obtener la muestra debido a un fracaso en el paso transpilórico o a un fallo en la obtención al dispararse la cápsula “en vacío”, o se obtiene una muestra de una zona sana.

Las ventajas de la biopsia endoscópica son múltiples. Aunque la más evidente sea el ahorro de tiempo frente a la biopsia por succión. Otros aspectos positivos son la ausencia de controles radiológicos, la ausencia de fallos en la obtención de la muestra, la posibilidad de tomar varias biopsias del lugar elegido por el endoscopista y la posibilidad de controlar la intensidad de la hemorragia tras la toma de las muestras. Además, permite el examen simultáneo del tracto digestivo superior. Como inconvenientes cabe destacar la mayor dificultad técnica, el mayor coste y la necesidad de colaboración de otro especialista que monitorice el estado del paciente durante la anestesia.



**Figura 13.** Diferencias entre la cápsula de Crosby y la endoscopia.

Fuente: <https://es.slideshare.net/jonibillordo/clase-sobre-enfermedad-celiaca-38012973>

Algunos autores creen que la mucosa del duodeno proximal puede no ser representativa de lo que ocurre en tramos más distales, ya que la mezcla de nutrientes y ácido liberados por el estómago puede inducir una reacción inflamatoria leve que dificulte la valoración de cambios discretos inflamatorios y de la estructura vellositaria, los criterios de la ESPHAN han

evolucionado a lo largo de los años y en la actualidad no es obligatorio en algunos casos la realización de biopsia intestinal.

Es necesario disponer de un estudio de coagulación previo, ya que algunos pacientes pueden tener un déficit de protrombina secundario a la malabsorción de vitamina K. Dado que las lesiones histológicas pueden ser parcheadas, se aconseja la toma de al menos cuatro muestras para el análisis histológico, dos del bulbo duodenal y otras dos más distales (mínimo, tercera porción duodenal).

### Estudio genético.

El estudio del HLA tiene un alto valor predictivo negativo, de tal manera que la ausencia de HLA-DQ2 o HLA-DQ8 permite excluir la EC con un 99% de certeza.

No está indicado realizarlo de forma sistemática, pero está demostrada su utilidad clínica en las siguientes situaciones:

1. Excluir susceptibilidad genética en familiares de primer grado de un paciente celíaco.
2. Personas con AAE o tTGA positivos que rechacen la biopsia
3. Pacientes con procesos patológicos asociados a EC (diabetes mellitus tipo 1, síndrome de Down, enfermedad tiroidea autoinmune, etc) con anticuerpos positivos y biopsias normales.
4. Pacientes con lesión mucosa y serología negativa o dudosa
5. EC latente Pacientes a los que se les ha retirado el gluten sin realización de biopsia previa y que están asintomáticos.
6. Excluir la EC en pacientes sintomáticos con serología y biopsias normales

### 1.7. Patogenia.

Se piensa que la EC también denominada esprue celiaco, enteropatía sensible al gluten o sprue no tropical es provocada por la activación de la respuesta inmune tanto de la mediada por células (células T) como la humoral (células B) ante la exposición a los glútenes (prolaminas y gluteninas) del trigo, cebada, centeno y rara vez avena, en personas genéticamente susceptibles. La concordancia de la enfermedad en gemelos monocigotos es del 70%, y en familiares que compartan el mismo haplotipo HLA es del 40%. además de una asociación con ciertos tipos de antígenos leucocitarios tipo II (HLA),

Las lesiones histológicas se clasifican atendiendo a los criterios de Marsh modificados por Oberhuber

#### **Marsh-Oberhuber tipo 0 (preinfiltrativa).**

Estas muestras son histológicamente normales. La arquitectura vellositaria está indemne y no hay hiperplasia críptica. Se cuantifican menos de 30LIE/100 células epiteliales. Los pacientes de este grupo pueden ser identificados sólo mediante pruebas serológicas y no suelen presentar síntomas. En esta clasificación modificada se establece como normal un número de 30LIE/100 células epiteliales. Esta cifra es actualmente motivo de controversia, estimando algunos autores que la cifra normal de LIE de 20 LIE o incluso inferior.

#### **Marsh-Oberhuber tipo 1 (infiltrativa).**

Se evidencia una arquitectura normal de las vellosidades con un incremento de los LIE (enteritis linfocitaria). Existen múltiples causas de enteritis linfocitaria, además de la EC (alergias alimentarias, sobrecrecimiento bacteriano, giardiasis, infección por *H pylori*, etc). En ausencia de datos clínicos o antecedentes familiares de EC, esta observación es sugestiva, pero no diagnóstica, de EC. Este incremento de los LIE sin otras alteraciones puede ser el único hallazgo inicial hasta en el 10% de casos de EC.

#### **Marsh-Oberhuber tipo 2 (infiltrativa, hiperplásica).**

Está conservada la arquitectura vellositaria aunque se evidencia incremento de LIE > 30/100 células epiteliales e hiperplasia críptica. La proporción normal entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas de estima entre 3:1 a 5:1, aunque otros autores defienden proporciones de 2:1, 1,8:1 o incluso de 1:1 como normales. Como ocurre en las lesiones de tipo 1, la presencia de estos hallazgos aislados no es suficiente para realizar el diagnóstico de EC. Este grado de lesión puede observarse en los celíacos tratados con dieta sin gluten y en los pacientes con dermatitis herpetiforme.

#### **Marsh-Oberhuber tipo 3 (atrofia vellositaria).**

Las lesiones tipo 3 se caracterizan por incremento de LIE, hiperplasia críptica y atrofia vellositaria (leve, moderada o grave), la clasificación inicial de Marsh no incluía estos subtipos según el grado de atrofia. Si la muestra no está correctamente orientada, el patólogo puede tener dificultades para diferenciar los tipos 3a y 3b.

#### **Marsh-Oberhuber 4 (hipoplasia).**

Se caracteriza por atrofia vellositaria grave, con LIE y criptas normales. Esta situación aparentemente irreversible puede ser resultado de desnutrición o de una alteración en la homeostasis de los LIE. Algunos patólogos sugieren que este estadio se elimine de la clasificación. Se recomienda, dada la asociación de la EC con procesos linfoproliferativos, una vigilancia estrecha de la mejoría de las lesiones tras la eliminación del gluten, así como una mayor rigurosidad en el análisis inmunohistoquímico de las biopsias.

En 2005 se publicó una clasificación histológica alternativa a la de Marsh-Oberhuber.

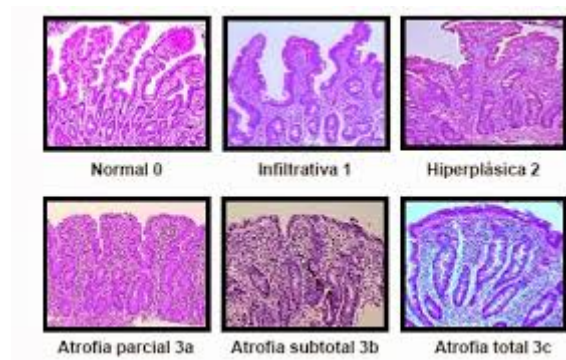
En 2005 Corazza y Villanaci, propusieron una clasificación simplificada con el fin de reducir la posibilidad de desacuerdo al evaluar las biopsias de EC (corazza GR y Villanacci V., 2005).

Su propuesta fue reducir las cinco categorías originales de la clasificación Marsh-Oberhauer a tres ello incluye simplemente 2 categorías:

1. Grado A, que comprende la lesión sin atrofia.
2. Grado B, que incluye la lesión atrófica.

Las lesiones grado B, se subdividieron posteriormente en dos subtpos B1 y B2, dependientes de la presencia o ausencia de vellosidades. Esta clasificación se ha basado en que el reconocimiento de la lesión de Marsh-Oberhauer tipo 2 y las del tipo 3a y la 3b no son esenciales para el diagnóstico y seguimiento de EC (Corazza GR y col., 2007)

Cualquiera de las formas histológicas mencionadas es compatible con la enfermedad, pero ninguna de ellas es específica, de ahí la importancia del estudio serológico y del estudio genético (en caso de serología negativa y alta sospecha clínica) para reforzar el diagnóstico, y la necesidad de verificar tanto la mejoría clínica como la resolución de las lesiones un tiempo después de haber retirado el gluten de la dieta. Con frecuencia, la recuperación de éstas es lenta, por lo que la biopsia de confirmación no debería llevarse a cabo antes de 18-24 meses

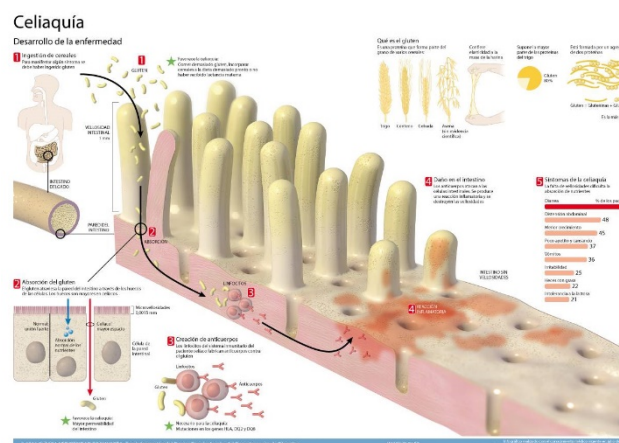


**Figura 14.** Clasificación de Marsh-Oberhauer

Fuente: Polanco Allue I (2008)

### 1.8. Clínica.

Para entender las lesiones de la EC hablaremos del órgano dónde se produce fundamentalmente que es el intestino, en el intestino es dónde se produce la absorción y para ofrecer mayor superficie decide doblarse, lo primero que podemos ver son los pliegues que de no ser por ellos, necesitaríamos un intestino delgado de hasta 18 metros de longitud para alcanzar la misma superficie de absorción. Si aumentamos el zoom de estos pliegues, en un solo milímetro cuadrado de la piel del intestino encontramos 30 imperceptibles vellosidades donde se sitúan Los enterocitos, encargados de la absorción de los nutrientes. Por último, aumentando más aún la resolución del microscopio se puede ver como cada una de estas 30 células, está compuesta a su vez por varias protuberancias vellosas (microvellosidades), revestidas de una capa mucilaginosa conocida como glucocálix. Si lo alisáramos todo nuestro intestino delgado alcanzaría una superficie de 7 kilómetros de longitud.



**Figura15.** Imágen de las microvellosidades del intestino

Fuente: <https://celiacoy punto.es/y-la-vacuna-pa-cuando/>

## Características clínicas de la enfermedad.

Se han descrito numerosas asociaciones de EC con otras patologías, muchas con base inmunológica, como dermatitis herpetiforme (considerada, realmente, como la EC de la piel), déficit selectivo de IgA, diabetes mellitus tipo I, tiroidismo o hepatitis autoinmune, entre otras.

La EC puede mantenerse clínicamente silente e incluso de latencia con mucosa intestinal inicialmente normal consumiendo gluten en algunos sujetos genéticamente predispuestos. La malignización es la complicación potencial más grave y viene determinada por la presencia mantenida de gluten en la dieta, incluso en pequeñas cantidades.

Hay diferentes niveles de sensibilización al gluten:

**EC clásica:** Enteropatía severa inducida por gluten en individuos genéticamente predispuestos

**Enteropatía:** Cambios en las vellosidades y las criptas, alteraciones del enterocito, cambios del borde en cepillo, LIE y aumento de la densidad celular de la lámina propia.

**EC latente:** Biopsia yeyunal normal con dieta libre y atrofia vellositaria inducida por gluten en otro momento evolutivo, en individuos genéticamente predispuestos.

**EC potencial:** Biopsia yeyunal normal con dieta libre en el momento del estudio, pero con características inmunológicas, asociadas a patrones HLA, similares a aquellos encontrados en la EC.

**Síntomas de sensibilidad al gluten:** Presencia de síntomas (intestinales o extraintestinales) que desaparecen con una dieta sin gluten en individuos sin susceptibilidad genética.

**Alergia al gluten:** Forma de reacción alérgica, sensibilización o hipersensibilidad mediada por IGE (Polanco Allué I., 2008).

En la gravedad de la lesión se diferencian cuatro estadios (lesión preinfiltrativa, infiltrativa, hiperplásica y destructiva). El daño de la mucosa es más intensa en el intestino proximal, duodeno y yeyuno, y disminuye caudalmente, siendo la extensión del daño lo que determina la gravedad de la malabsorción (García Peris y col., 2001).

El diagnóstico de la EC se basa en cuatro pilares fundamentales: Manifestaciones clínicas, estudio genético, pruebas serológicas, y hallazgos histológicos.

Las manifestaciones clínicas son muy diversas, siendo la diarrea (45-85%) y la pérdida de peso (45%) las más frecuentes manifestaciones son: Anemia (10-15%) por falta de hierro, folato o vitamina B12, diátesis hemorrágica por falta de absorción de vitamina K, osteopenia/osteoporosis (1-34%), dolor y distensión abdominal (34-64%), borborigmos (35-72%), flatulencia (28%), estatura pequeña, estomatitis recurrente, dermatitis herpetiforme (10-20%), aumento de las transaminasas séricas, infertilidad o abortos espontáneos, debilidad y/o fatiga (78-80%) y depresión. Algunos pacientes pueden presentar una forma silente de la enfermedad, permaneciendo asintomáticos (Gil Hernández y col., 2010).

Esta enfermedad se caracteriza por la afectación de segmentos proximales del intestino delgado provocando malabsorción y déficit de hierro, ácido fólico, calcio y vitaminas liposolubles. La diarrea se debe en la mayoría de las ocasiones a la progresión de la enfermedad hasta el intestino delgado distal (Murray JA y col., 2012) De esta manera, si sólo está afectado el intestino proximal no desencadena la diarrea porque los segmentos más distales pueden compensar la absorción de productos derivados de la digestión de los hidratos de carbono y grasas (Rodrigo L y col., 2008).

En los niños la EC generalmente se manifiesta en forma de diarrea crónica acompañada de distensión abdominal, y retraso de crecimiento, lo que constituyen la denominada *forma clásica* o triada característica (Guarino A y col., 2012). Otros síntomas que también aparecen con cierta frecuencia en la infancia son la anorexia, pérdida de peso, los vómitos, la irritabilidad e incluso el estreñimiento. Cuando la enfermedad aparece más tardíamente, en niños mayores o en la adolescencia, puede haber manifestaciones extraintestinales, (Sharma M y col., 2013) tales como cefalea, anemia (Carroccio A y col., 1998) y síntomas neurológicos, (Hijaz NM y col., 2013) entre otros síntomas.

En adultos se presenta con una frecuencia de 2-3 veces mayor en las mujeres que en los varones (Rodrigo Saez L y col., 2006). También la prevalencia de enfermedades autoinmunes es más frecuente en las mujeres, así como la anemia ferropénica y la osteoporosis, que son procesos frecuentemente asociados a la celiaquía. Las formas de presentación en el adulto son muy variadas y menos características, por lo que se denominan *formas atípicas* (Pulido O y col., 2013) u oligosintomáticas. La diarrea aparece en el adulto en menos del 50% de los pacientes y la pérdida de peso es poco llamativa, de hecho hasta un 30% de los pacientes presentan sobrepeso en el momento del diagnóstico (Tanpowpong P y col., 2012).

**Tabla 3.**

Síntomas digestivos y extradigestivos en el momento de diagnóstico

Síntomas digestivos	Síntomas extradigestivos
Esteatorrea	Dermatitis herpetiforme
Obstrucción intestinal	Infertilidad o abortos
Diarrea osmótica	Anemia
Elevación de transaminasas	Demencia
Diarrea secretora	Déficit de Fe o folato
Pancreatitis recurrente	Síndrome espinocerebeloso
Pérdida de peso	Neuropatía
Sangrado oculto	Tetania
Estreñimiento	Osteoporosis
Linfoma MALT	Artralgias
Flatulencia	Defectos del esmalte dental
Dolor abdominal	Fatiga
Retraso de crecimiento	Osteomalacia
Vómitos	Epilepsia con calcificaciones intracraneales
Dispepsia	Depresión

Se puede hablar de 6 tipos de EC, de acuerdo con las características clínicas, inmunológicas, histológicas y evolutivas.



## Enfermedad celíaca clásica.

Los síntomas suelen aparecer antes de los 2 años de edad: Diarrea (heces pastosas de poco color, abundantes, fétidas), distensión abdominal, retraso ponderal, anorexia rebelde e irritabilidad. Muy pocos niños debutan en la actualidad como crisis celíaca, es decir, con mal estado general, diarrea aguda, trastornos hidroelectrolíticos, deshidratación y shock. La presentación clínica relativamente uniforme en niños contrasta con la variabilidad en la naturaleza y la intensidad en los adultos. En estos, la presencia de anemia ferropénica ha sido considerada como el síntoma clásico sugestivo de la EC.

La característica histológica fundamental, aunque inespecífica, es la atrofia subtotal de vellosidades que revierte a la normalidad tras dieta sin gluten. La proporción de pacientes sintomáticos con EC y con signos evidentes de malabsorción se ha estimado inferior al 30-40%; por ello, es posible encontrar un paciente clínicamente asintomático que lleve una dieta sin gluten mal efectuada y siga presentando lesión vellositaria debido a transgresiones no conocidas o inadvertidas.

La dermatitis herpetiforme es la expresión cutánea de la EC. Se presenta en niños mayores, adolescentes y adultos jóvenes en forma de lesiones vesiculares pruriginosas en piel normal o sobre placas maculares localizadas simétricamente en cabeza, codos, rodillas y muslos. El diagnóstico se realiza mediante la demostración por inmunofluorescencia directa de depósitos granulares de IgA en la unión dermoepidérmica de piel sana. Aproximadamente el 60% de los niños con dermatitis herpetiforme presentan atrofia subtotal de vellosidades y el 30% muestra atrofia parcial. La exclusión del gluten mejora las lesiones cutáneas incluso sin existir alteración evidente de la mucosa intestinal.



**Figura 16.** dermatitis herpetiforme Wikipedia

Aunque existen todavía muchos puntos por aclarar en la etiopatogenia de la EC y DH, las transglutaminasas tisular y epidérmica parecen ser el autoantígeno en el intestino y la piel, respectivamente.

La mayoría de los casos de DH se inicia entre los 15 y 40 años, siendo la edad más frecuente de inicio de los casos pediátricos alrededor de los 7 años. A diferencia de lo que ocurre en los adultos, en los niños hay un predominio del sexo femenino (2:1) y la enteropatía tiene mayor gravedad.

La detección de AAE y tTGA suele ser positiva en un 70-80% de los pacientes con DH que ingieren gluten con la dieta. Otros anticuerpos de menor valor diagnóstico que pueden detectarse en estos enfermos son antirreticulina, antigliadina, antitiroideos, antinucleares y anticélulas parietales gástricas (Fonseca E y col., 2008) Las manifestaciones son muy variadas y polimorfas expresadas gráficamente.

### **Enfermedad celíaca paucisintomática o monosintomática.**

Actualmente es la forma más frecuente de EC, tanto de la edad adulta como de la pediátrica, y puede cursar con síntomas intestinales y/o extraintestinales. El espectro histológico es variable, desde el incremento de LIE (enteritis linfocítica) a la atrofia total. El porcentaje de positividad de autoanticuerpos séricos es variable (15 al 100%) y dependiente de la gravedad histológica.

### **Enfermedad celíaca silente**

Se caracteriza por la positividad en la serología y atrofia vellositaria, sin acompañarse de síntomas. La mayoría de los casos de EC diagnosticados como consecuencia de despistaje entre familiares de primer grado corresponden a la forma silente. Histológicamente se aprecia mucosa plana o atrofia subtotal, que se normaliza tras instaurar DSG.

### **Enfermedad celíaca latente**

Este término se reserva en la actualidad para los pacientes que tienen una biopsia intestinal normal tomando dieta normal pero que tiempo atrás presentaron una mucosa yeyunal plana que se recuperó después de retirar gluten de la dieta. También se incluyen, bajo este epígrafe, aquellos pacientes que van a presentar características propias de la EC a lo largo de su vida. Con frecuencia se detectan síntomas poco relevantes y/o factores de riesgo constituidos por enfermedades como diabetes mellitus, síndrome de Down, etc.

Los AAG no son marcadores obligatorios de esta enfermedad. Los AAE y tTGA son los mejores factores predictivos de progresión a la atrofia vellositaria.

### **Enfermedad celíaca potencial**

Se ha propuesto este término para aquellos pacientes que nunca han tenido una biopsia intestinal patológica y sin embargo presentan anomalías inmunitarias similares a las encontradas en la EC. Los marcadores sugestivos de la EC potencial son los siguientes:

- AAE y tTGA positivos
- Porcentaje de linfocitos intraepiteliales superior al 30%
- Aumento de la densidad de LIE que expresan los receptores de linfocitos T  $\gamma/\delta$

-Signos de inmunidad celular activada en la mucosa como la expresión de CD25 y B7 por las células mononucleares de la lámina propia, y tipado HLA que evidencia alelos DQ asociados a la EC.

-Sobrepoblación de anticuerpos intestinales IgA e IgM, como expresión de enteropatía. Es peculiar el elevado nivel de AAG-IgM asociado con niveles elevados de AAG-IgA y de anticuerpo IgM anti-ovalbúmina o antibetalactoglobulina.

-Demostración de células sensibilizadas por el gluten en la mucosa rectal, de más fácil acceso que el yeyuno. La agresión con gluten tras un enema de gliadina provoca a las 6 horas una significativa infiltración de linfocitos en la lámina propia y en las células epiteliales.

En la EC existe evidencia de afectación intestinal (enteropatía), pero también puede apreciarse por respuesta inmunitaria anómala, alteración en piel (dermatitis herpetiforme), boca (aftas recurrentes), riñón (nefropatía IgA), articulaciones (artritis) y sistema nervioso central (epilepsia y calcificaciones). Es probable que en la EC potencial se requiera para el desarrollo de la lesión mucosa típica del paciente celíaco la existencia de factores facilitadores, como el aumento temporal en la permeabilidad intestinal, el incremento en el consumo de gluten o una infección intestinal.

## Enfermedad celíaca resistente

La principal causa de falta de respuesta a la DSG es la ingestión continuada y generalmente inadvertida de gluten. El diagnóstico de EC resistente (ECR) se establece tras la exclusión de otras enfermedades, ante la persistencia de malabsorción y atrofia vellositaria (intolerancia a otros alimentos, sobrecrecimiento bacteriano, insuficiencia pancreática, colitis microscópica o colitis colágena, giardiasis, yeyunitis ulcerativa, enteropatía autoinmune, linfoma intestinal, etc). Comprende un heterogéneo grupo de afecciones, por lo general en pacientes adultos, que afortunadamente se manifiestan en forma infrecuente (<5% de la población celíaca). Para su diagnóstico es fundamental la detección de alteraciones en la población linfocitaria intraepitelial.

En función de las características de esta población se LIE, se diferencian dos tipos de ECR con diferente enfoque terapéutico y pronóstico:

ECR tipo I: la población de linfocitos intraepiteliales presenta el fenotipo de marcadores de superficie similar a los pacientes con EC activa sin haber comenzado DSG. Además, cuando por técnicas de biología molecular se analiza el reordenamiento de los genes del receptor de la célula T (TCR), se observa que es policlonal.

ECR tipo II: En este caso, el fenotipo de los LIE se encuentra alterado y constituye una población aberrante. Esta población linfocitaria ha perdido los marcadores de superficie (CD3, CD8 y TCR) conservando el CD103 que la caracteriza como intraepitelial. Así como la expresión de CD3 intracitoplasmático. Además, esta población presenta un reordenamiento oligoclonal o monoclonal del TCR. Debido a estas características, la ECR tipo II también se denomina linfoma críptico intestinal de célula T, considerado como un linfoma T latente.

## 1.9 Entre los procesos patológicos que pueden asociarse a la EC cabe destacar:

Enfermedades autoinmunes, trastornos neurológicos y psiquiátricos, entre otros.

La frecuencia de los trastornos autoinmunes es 10 veces mayor en los pacientes adultos con EC que en la población general

Comprenden los siguientes procesos patológicos:

Síndrome de Down (la asociación es superior al 12%)

Síndrome de Sjögren (SS) (es el proceso con manifestaciones articulares que con mayor frecuencia se asocia con la EC, pues hasta un 15% de pacientes presentan ambos procesos de forma simultánea)

Lupus eritematoso,

Enfermedad de Addison,

Nefropatía por IgA,

Hepatitis crónica autoinmune, Hepatitis autoinmune (HAI). La prevalencia es del 5%. La asociación entre ambos procesos parece estar en relación con la presencia del haplotipo HLA B8/DR3/DQ2, común para ambas enfermedades.

Cirrosis biliar primaria (CBP). La prevalencia es del orden del 6%.

Artritis reumatoide (la prevalencia entre pacientes con AR juvenil, es del orden del 1,5-2,5%).

Síndrome de Williams, síndrome de Turner, fibrosis quística, enfermedad de Hartnup, cistinuria, colitis microscópica, miocardiopatía, fibromialgia y síndrome de fatiga crónica e infertilidad, hipertransaminasemia idiopática, enfermedad de Addison. La prevalencia de EC en pacientes con transaminasas elevadas, es del orden del 9%. La mayoría de ellos presentan una hepatitis reactiva en la biopsia, de mediana intensidad morfológica.

Hiperplasia del esmalte dentario. Es frecuente encontrar en EC defectos en el esmalte dentario, que se caracterizan por ser bilaterales, simétricos y cronológicamente distribuidos en los cuatro sectores de la dentición. La causa de este proceso no parece estar relacionada con la presencia de defectos nutricionales, sino más bien con trastornos inmunológicos asociados (anticuerpos antiesmalte).

Otros procesos. Existen enfermedades como la sarcoidosis, algunas colagenosis, y otras que también se han relacionado con EC, pero cuya asociación es poco frecuente o incluso excepcional (Rodrigo Saez L., 2007) mientras que son frecuentes otros síntomas de EC tales como anemia ferropénica, talla baja, retraso puberal, hipertransaminasemia, síntomas dispépticos, dermatitis herpetiforme y aftas orales de repetición.

Desarrollo puberal. La EC no tratada se puede asociar con pubertad tardía, definiéndola como la no aparición de caracteres sexuales secundarios ni de la primera menstruación (menarquía) una vez considerada como extremo superior de la normalidad. Ausencia de desarrollo mamario después de los 13 años o ausencia de menstruación después de los 16. La llegada de la pubertad es la consecuencia de la activación del eje hipotálamo-hipófisis-ovárico y en último término del influjo que los esteroides ováricos producen sobre los órganos diana. La EC tiene una mala absorción de determinados nutrientes y un estado de malnutrición que secundariamente produce una inactivación del eje hipotálamo-hipofisario dando lugar a la aparición tardía de la pubertad como consecuencia de un hipogonadismo hipogonadotrópo.

Manifestaciones ginecológicas más frecuentes en mujeres celiacas no tratadas son menarquía tardía, menopausia precoz, amenorrea secundaria, aumento de incidencia de abortos espontáneos y crecimiento intrauterino retardado, así como esterilidad de origen desconocido. También aunque más raramente puede ser causa de dolor pélvico crónico de origen desconocido, dismenorrea y dispareunia. En la actualidad no existe una evidencia clínica documentada en cuanto a mayor riesgo de malformaciones fetales en mujeres celiacas.

En cuanto a métodos anticonceptivos. Los anticonceptivos orales, que ingresan en el organismo a través del aparato digestivo, en los procesos malabsortivos como la EC no tratada puede estar disminuida la biodisponibilidad del fármaco y por tanto su eficacia, por lo que estarían contraindicados.

Estarían indicados los anticonceptivos inyectables, los cuales via intramuscular cada mes o cada tres meses dependiendo del preparado, o el parche transdérmico, de recambio semanal y con una excelente eficacia anticonceptiva (Galvez Bueno G y col.,).

La disfunción gonadal descrita en varones afectados de EC puede ser debida a una disminución de la conversión de testosterona a dihidrotestosterona que produciría una inmadurez de los caracteres sexuales secundarios y reducción en la calidad del semen. También se han descrito trastornos como impotencia y disminución de la libido debidos a un incremento de la prolactina. La hiperprolactinemia podría afectar hasta aun 25% de pacientes celíacos no tratados.

La **EC silente**, en la mujer, puede ser considerada como una causa de esterilidad de origen desconocido, que puede afectar hasta el 4% de las pacientes, teniendo en cuenta que la esterilidad de origen desconocido afecta a un 10-15% de las parejas infértiles, estamos ante un problema importante de fertilidad. La malabsorción y malnutrición asociadas a EC con el consiguiente déficit de hierro, zinc, y folatos pueden afectar a la secreción de gonadotropinas hipofisarias, produciendo alteraciones de la fertilidad tanto en mujeres como en varones.

También se han comunicado que las pacientes con EC tienen bebés con menor peso al nacer, con mayor mortalidad perinatal y una lactancia más breve. La adherencia a la dieta libre de gluten (DLG) lleva a recuperar los resultados normales.

La EC puede manifestarse clínicamente por primera vez durante el embarazo o en el puerperio. Se ha detectado EC no diagnosticada en mujeres infértiles que fueron estudiadas en screenings buscando la enfermedad

-Diabetes Mellitus tipo 1: Aproximadamente el 5-6% de los pacientes asocian EC. Casi siempre aparece antes la diabetes que la celíaca. La presencia simultanea de EC y DM tipo I es frecuente, la prevalencia oscila entre el 1,1-5,6% de la población de niños y adolescentes diabéticos.

La frecuente asociación entre EC y DM tipo I puede ser el resultado de la interrelación entre factores genéticos, hormonales y ambientales. Los marcadores genéticos mas frecuentes encontrados en los pacientes celíacos y en los diabéticos son los antígenos HLA-DQ2 y HLA-DQ8. El hecho de compartir ambas enfermedades estos marcadores genéticos podrían explicar, en parte, por qué la enteropatía asociada al gluten es más frecuente en los pacientes con DM tipo I que en la población general, se han implicado otros factores en esta asociación. La dieta de los niños diabéticos incluye un aporte abundante de hidratos de carbono de absorción lenta (que contienen cereales con gluten) que puede favorecer la aparición de EC en sujetos predispuestos y además la pérdida de factores protectores o la exposición a factores agresores (aumento de la permeabilidad intestinal) podría influir en la aparición de EC en pacientes diabéticos.

En algunos pacientes diabéticos se ha detectado esta situación de latencia de la enfermedad y mas tarde han desarrollado atrofia de la mucosa diagnosticándose una EC. En la actualidad se aconseja hacer un seguimiento anual de tTGA en los diabéticos para identificar precozmente una posible EC (Roldan B y col., 2008)

Mas raramente se manifiesta antes la EC que la DM tipo I. La edad de diagnóstico de EC en pacientes diabéticos es mayor que en la población general puesto que predominan los casos atípicos y asintomáticos detectados por el estudio de tTGA que se hace de manera sistemática en los niños diabéticos tipo I. Los síntomas y signos clásicos de EC (diarrea, distensión abdominal etc) son raros en los pacientes diabéticos,

Tiroiditis autoinmune: La asociación de la EC es frecuente (5%) tanto en niños como en adultos. Las enfermedades Tiroideas, la prevalencia varía entre un 4 y un 14% fundamentalmente en hipotiroidismo. Globalmente la EC aparece asociada en un 3% de pacientes con hipertiroidismo y en un 5% de pacientes con tiroiditis de Hashimoto.

Déficit selectivo de IgA: Alrededor del 4% de los pacientes celíacos presentan además un déficit selectivo de IgA (cuando existe una deficiencia en Ig A la prevalencia de EC es del 8%. Para realizar el diagnóstico en estos pacientes deben utilizarse marcadores serológicos del tipo Ig G y cuantificar los niveles séricos de esta inmunoglobulina, así como descartar la presencia de parasitosis asociada (*Giardia Lamblia*) (Rodrigo L y col., 2007)

Enfermedad inflamatoria intestinal (EII). El riesgo de presentar una EII en pacientes con EC, está aumentado del orden de cinco veces, respecto a la población general

Otras enfermedades autoinmunes:

Psoriasis (entre un 15-30% de pacientes con psoriasis, presentan datos serológicos de EC y de ellos la mitad tienen una enteropatía de diversa intensidad),

Vitíligo y alopecia areata (existe una asociación débil, aunque puede ser interesante para la búsqueda de EC subclínica en estos pacientes)

Dermatitis herpetiforme

Es considerada una manifestación cutánea de la sensibilidad al gluten en pacientes con EC.

Si bien los individuos con DH habitualmente no presentan síntomas del tracto digestivo, habitualmente tienen el daño intestinal característico de la EC.

La DH se diagnostica mediante biopsia cutánea. Se la trata con una dieta libre de gluten (DLG) y una medicación para controlar la erupción por ejemplo con dapsona o sulfapiridina. Este tratamiento puede llevar varios años.

Tanto las patologías de la piel como del intestino delgado son dependientes del gluten y están fuertemente asociadas con HLA-DQ, sin diferencias que expliquen los dos fenotipos (Bai J y col., 2012)

La EC tiene otras manifestaciones dermatológicas inespecíficas que se atribuyen a diferentes situaciones carenciales, así en casi todos los pacientes se aprecia algún grado de xerosis, que puede llegar a producir descamación de intensidad variable. Así mismo puede ocasionar prurito y lesiones tipo prurigo o liquen simple crónico secundarias al rascamiento.

Hasta en el 90% de los casos existe una estomatitis que puede afectar sólo a la lengua (glositis) o también a la mucosa oral. En las formas más leves sólo se circunscribe a la extremidad distal y las caras laterales de la lengua. La mucosa adquiere un aspecto rojo brillante y pueden aparecer múltiples erosiones o úlceras dolorosas en su superficie. También es posible observar estomatitis angular (rágades o boqueras) hasta en el 50% de los casos y lesiones eritematosas y erosivas en el margen anal y la mucosa genital, que pueden ser responsables de dolor con la defecación y la micción y dispareunia. Las alteraciones mucosas se consideran secundarias fundamentalmente a deficiencia de vitaminas del grupo B y ácido fólico.

En un 10-20% se aprecia una dermatitis, que suele tener un componente eritematoso muy descamativo y distribuirse en placas, que pueden ser de aspecto similar a la dermatitis seborreica, la psoriasis, el eccema, el eccema esteatótico o la ictiosis. Las lesiones eccematosas tienen como peculiaridad un notable componente de hiperpigmentación y se han relacionado con hipocalcemia.

La hiperpigmentación puede ser independiente de las lesiones ecematosas y se han descrito patrones, simulando el melasma, pigmentación en brochazos en la cara y el cuello, una distribución pelagroide en zonas fotoexpuestas y un patrón cutáneo-mucoso addisoniano.

Los déficits de vitaminas C y K pueden manifestarse con lesiones petequiales, púrpura y hemorragias en la mucosa oral.

El crecimiento del pelo y de las uñas suele estar enlentecido y puede haber una alopecia parcial y difusa en el cuero cabelludo, las cejas, las pestañas y el vello corporal. Las uñas pueden mostrar estrías longitudinales o transversales (líneas de Beau), erosiones superficiales e incluso perforaciones. Las carencias de proteínas y la hipocalcemia parecen las principales causas de estas anomalías. Cuando existe ferropenia es frecuente la coiloniquia o uñas en cuchara y hasta en un 20% de estos enfermos pueden desarrollar uñas en vidrio de reloj y dedos en palillo de tambor (acropaquía).

## Trastornos neurológicos y psiquiátricos

Los trastornos neurológicos y psiquiátricos que pueden asociarse con la EC son:

- Encefalopatía progresiva,
- Síndromes cerebelosos,
- Demencia con atrofia cerebral,
- Leucoencefalopatía,

Epilepsia y esquizofrenia. El tiempo de exposición al gluten, se ha relacionado con la aparición de la epilepsia. Existen algunos datos que hablan a favor de la presencia de lesiones del tipo de vasculitis cerebral, como sustrato morfológico de dicho proceso.

Ataxia cerebelosa. Generalmente es de comienzo tardío y muchos pacientes además del temblor y alteraciones del equilibrio, presentan una neuropatía periférica asociada. Frecuentemente se encuentran anticuerpos circulantes frente a las células de Purkinje del cerebelo.

## Otros trastornos asociados

También se asocian con la EC los siguientes trastornos:

La dispepsia funcional, el síndrome de intestino irritable o la diarrea funcional son algunos de los trastornos funcionales digestivos que se han relacionado con la EC o la sensibilidad al gluten no celiaca, entidad clínica de reciente aparición.

La dispepsia funcional, según los criterios de Roma III, se caracteriza por la presencia durante al menos tres meses de uno o más de los siguientes síntomas:

- 1) pesadez o plenitud postprandial;
- 2) saciedad precoz;
- 3) dolor epigástrico;

4) ardor epigástrico; y la ausencia de alteraciones estructurales en la endoscopia digestiva alta que puedan explicar los síntomas. Se podría concluir, por tanto, que la dispepsia funcional es un diagnóstico de exclusión que se establece cuando en un paciente que presenta síntomas atribuibles al tracto gastroduodenal, no existe ninguna evidencia de daño estructural (endoscopia negativa) o bioquímico que pueda explicar los síntomas. Se trata de una entidad

muy prevalente, que aunque no reviste gravedad, ocasiona un importante impacto sobre la calidad de vida de los pacientes. Síntomas digestivos inespecíficos como dispepsia (40%), dolor abdominal (35%) y meteorismo (31%). (Zipser RD y col., 2003).

### Complicaciones de la EC no tratada.

Cancer (globalmente 1.3:1.0) (sin contar el cáncer colorectal)

Linfomas malignos

Neoplasias del intestino delgado

Tumores orofaríngeos

Adenocarcinomas del intestino grueso

Infertilidad inexplicada (12%)

Osteoporosis (riesgo aumentado en los pacientes con sintomatología clásica).

Es conveniente realizar una medición de la densidad mineral cuando se diagnostica de EC, puesto que la reducción de la densidad ósea es común tanto en adultos como en niños y es más severa en la EC sintomática que en la silente y se acompaña de un mayor riesgo de fracturas. La densidad ósea mejora después de una DLG, pero puede no retornar al valor normal

Detención del crecimiento

Enfermedades autoinmunes.

Las enfermedades malignas son más frecuentes en los pacientes con EC clásica de larga duración y no tratada. Los adenocarcinomas del intestino delgado, carcinoma escamocelular orofaríngeo y esofágico y el linfoma no Hodgkiniano ocurren con mayor frecuencia en los pacientes con EC que en los individuos control sanos. Se piensa que una DLG protege contra el desarrollo de las neoplasias, si bien esto podría no ser el caso de los linfomas de células T asociados a enteropatía en pacientes diagnosticados más allá de los 50 años

### 1.10. Modificaciones de la dieta.

El tratamiento de la EC se basa en la realización de una dieta exenta de gluten para toda la vida, lo cual va seguido de una rápida mejoría clínica, principalmente en los niños. La desaparición de los síntomas puede prolongarse hasta 3-6 meses, y la cicatrización completa de las lesiones intestinales puede ser todavía más prolongada, sobre todo en los ancianos.

Se debe excluir de la dieta cualquier derivado que contenga proteínas de los siguientes granos: trigo, cebada, centeno, avena, espelta, kamut y triticale; si bien, el poder tóxico de la avena es bastante controvertido. Los pacientes celíacos se encuentran con serias dificultades para seguir una DSG, pues en muchos países existe una falta de precisión en la legislación sobre el etiquetado de los alimentos.

En cuanto a los productos etiquetados “sin gluten”, según la FACE (federación de asociaciones de celíacos de España) y el Ministerio de Sanidad, no deberían contener más de 20ppm (partes por millón) de gluten; aunque no existe ninguna normativa legal que denomine y regule estos productos en nuestro país. Según un estudio del Centro Nacional de Alimentación del Instituto de Salud Carlos III, alrededor del 30% de los productos analizados etiquetados “sin gluten” contenían más de 20 ppm de esta proteína.



El gluten puede formar parte de los alimentos en origen o bien contaminarlos durante su fabricación. Además se utiliza ampliamente en la industria alimentaria por sus grandes propiedades y por ser barato, algunos ejemplos son:

- Como vehículo o excipiente de aditivos
- Como agente preservador de la humedad
- Como barrera frente a la grasa
- Como barrera frente a aromas externos
- Para evitar la difusión del color
- Para evitar la oxidación
- Como aglutinante y espesante

Los pacientes celíacos pueden presentar una intolerancia secundaria a la lactosa, principalmente al diagnóstico de la enfermedad, que suele desaparecer a medida que la mucosa intestinal se recupera. Por tanto, inicialmente es necesario realizar una restricción temporal de la lactosa de la dieta. También suele ser necesario al inicio restringir la grasa y suplementar ciertos micronutrientes, especialmente Fe, Ca, ácido fólico y las vitaminas liposolubles, en los pacientes con malabsorción, aunque puedan posteriormente retirarse si el paciente recupera su función intestinal. Además, pueden utilizarse temporalmente suplementos nutricionales (sin gluten y sin lactosa) (isosource standard, edanec.etc).

Otras causas de resistencia son la coexistencia de sobrecrecimiento bacteriano intestinal (en cuyo caso habrá que añadir antibióticos como metronidazol por vía oral), de insuficiencia pancreática (añadir enzimas pancreáticas) o los raros casos de esprúe refractario. En estos casos es posible a veces identificar una banda colágena subepitelial en la biopsia intestinal (esprúe colágeno). El tratamiento del esprúe refractario es difícil (se han utilizado esteroides, inmunosupresores o combinaciones de ambos). Por otra parte, ante cualquier paciente que de forma imprevista presenta un empeoramiento a pesar de realizar correctamente la dieta hay que descartar la implantación de un linfoma intestinal.

### 1.11 Tratamiento

El tratamiento de la ECR se basa en un adecuado soporte nutricional y en el empleo de corticoides y/o inmunosupresores (azatioprina e infliximab, principalmente). Ante, un diagnóstico de EC resistente tipo II, el elevado riesgo de progresión a linfoma intestinal de células T obliga a emplear diferentes esquemas terapéuticos, en general más agresivos. Aunque en la actualidad ningún tratamiento ha demostrado claramente ser eficaz a largo plazo, la inmunoterapia con anti-CD52 o similares y el trasplante autólogo de médula ósea son dos opciones que deben tenerse en cuenta en la ECR tipo II. Son prometedores los ensayos con anticuerpos que bloquean la secreción epitelial de IL-15, que es una molécula clave en la patogénia de esta enfermedad.

El tratamiento radica en la eliminación estricta del gluten para toda la vida. La exclusión abarca: Trigo, cebada, centeno, triticale y productos derivados. Existe controversia con respecto a la avena, pero conviene retirarla pues aún no se ha demostrado con seguridad que no sea tóxica para estos pacientes.

El efecto de la dieta es habitualmente espectacular, con cese de los síntomas en pocas semanas. La normalización de la mucosa intestinal se produce a partir de los 6 meses de

tratamiento. El tratamiento dietético debe hacerse a los pacientes sintomáticos y a los asintomáticos. Los problemas derivados de mala adhesión a la DSG son la malignización, las deficiencias nutricionales (anemia, osteopenia, etc) y el riesgo de desarrollar enfermedades autoinmunes.

Es recomendable excluir o al menos reducir la lactosa en las primeras 3-4 semanas, pues la actividad disacaridasa está muy disminuida como consecuencia de la marcada atrofia vellositaria.

El único tratamiento que ha dado resultados es llevar una DSG.

Existen tratamientos en estudio y fases experimentales como:

- a) Degradación enzimática del gluten (prolil-endopeptidasas, probióticos, etc)
- b) Disminución de la permeabilidad intestinal (agonistas de la zonulina como AT-1001)(laratozoide)
- c) Agentes bloqueantes de la transglutaminasa tisular
- d) Agentes bloqueantes de la DQ2 (sustitución de aminoácidos)
- e) Cambio de respuesta de Th1 a Th2 (cambiar la producción de IFN- $\gamma$  por IL-10)
- f) Citoquinas anti-inflamatorias (IL-10 y anti-IL-15)
- g) Vacuna frente a péptidos derivados del gluten
- h) Inducción de tolerancia al gluten (entre el 4º y 7º mes del nacimiento)
- i) Inhibición selectiva de adhesión de los leucocitos al endotelio vascular (antagonistas de la integrina  $\alpha 4$  y de la integrina  $\alpha 4\beta 7$ )
- j) Mitógenos que estimulen el crecimiento de la mucosa intestinal (R-espondina-1)

## Clasificación de los alimentos según su contenido en gluten

### 1) Alimentos con gluten

Los derivados de los cereales que llevan gluten (pan, galletas, etc)

### 2) Alimentos que pueden contener gluten Aquellos que sin derivar directamente de estos cereales, llevan gluten como excipiente, se puede encontrar en embutidos, quesos fundidos, conservas, caramelos, etc

### 3) Alimentos sin gluten

Leche y derivados, carnes congeladas y conservas al natural, productos naturales (carne, pescado, frutas, verduras, legumbres, frutos secos, etc)

## Precauciones de la dieta sin gluten

El establecimiento de un régimen sin gluten constituye un problema terapéutico complejo, pues dado el carácter permanente de la enfermedad, es imprescindible contar con la colaboración de los pacientes, familia y entorno (colegio, amigos) precisando una rigurosa vigilancia para evitar la ingesta inadvertida de gluten. Al respecto, son numerosos los productos manufacturados con incierta composición en cuanto al gluten, siendo frecuente encontrar etiquetados engañosos.

En la última norma publicada por la comisión del codex alimentarius (ALINORM 08/31/26) con respecto a alimentos para las personas intolerantes al gluten se hace hincapié en algunas definiciones y en el etiquetado de los productos. Se establece una diferencia entre alimentos sin gluten y alimentos procesados de forma especial para reducir el contenido de gluten.

Los alimentos exentos de gluten son alimentos dietéticos que:

Están constituidos por uno o más ingredientes que no contienen trigo, o son elaborados únicamente con ellos (es decir, todas las especies de *triticum*, como el trigo duro, la espelta y el kamut), centeno, cebada, avena o sus variedades híbridas, y cuyo contenido de gluten no sobrepasa los 20mg/Kg (20ppm) en total, medido en los alimentos tal como se venden o distribuyen al consumidor.

En cuanto al etiquetado, además de las disposiciones generales sobre el etiquetado que figuran en la norma general para el etiquetado de los alimentos preenvasados (CODEX STAN 1-1985) y en la norma general para el etiquetado y declaración de propiedades de alimentos preenvasados para regímenes especiales (CODEX STAN 146-1985) y de toda otra disposición específica sobre etiquetado que figure en una norma del CODEX aplicable al alimento concreto de que se trate, esta Norma indica que se aplicarán las siguientes disposiciones para el etiquetado de los alimentos exentos de gluten:

En el caso de los productos descritos bajo el epígrafe alimentos exentos de gluten, el término “*exento de gluten*” deberá aparecer muy cerca del nombre del producto.

El etiquetado de los productos procesados de forma especial para reducir el contenido de gluten a un nivel comprendido entre 20mg/Kg y 100mg/Kg debería regularse a nivel nacional. No obstante, estos productos no deben denominarse “exentos de gluten”. Los términos empleados en las etiquetas de esos productos deberían indicar la verdadera naturaleza del alimento y deberán aparecer en la etiqueta muy cerca del nombre del producto.

La norma también recoge que un alimento que por su naturaleza sea apto para su uso como parte de una dieta exenta de gluten no deberá designarse “para regímenes especiales”, “para dietas especiales” o con otro término equivalente. No obstante, en la etiqueta de dicho alimento podrá declararse que “este alimento está exento de gluten por su naturaleza” siempre y cuando el alimento se ajuste a las disposiciones que regulan la composición esencial de los alimentos exentos de gluten y siempre que dicha declaración no confunda al consumidor.

En España, la administración no realiza controles sistemáticos a los productos etiquetados con gluten por lo que es imprescindible el soporte informático de las asociaciones de celíacos que se encargan de controlar productos sin gluten con garantía de contener menos de 20ppm (2mg de gluten/100g). Aunque se desconoce el nivel de gluten tolerado por los celíacos, se debería restringir su ingesta al mínimo posible para evitar complicaciones, pues en personas muy sensibles el consumo continuado de pequeñas cantidades de gluten podría ocasionar lesión intestinal o provocar trastornos autoinmunes. Tampoco se contemplan ayudas económicas estatales a este grupo de pacientes, pese a que una dieta sin gluten es hasta un 300% más cara.

El tratamiento dietético que excluye todos los cereales tóxicos es el único tratamiento para estos pacientes. No obstante, se empiezan a proponer estrategias terapéuticas basadas en la destoxificación de los cereales implicados en la enfermedad. En la actualidad, aunque el objetivo final de producir trigo privado de toxicidad permanece inaccesible, otras consideraciones más próximas se dirigen a destoxificar el gluten en el interior del intestino, por ejemplo, mediante la utilización de peptidasa bacteriana capaz de degradar los polipéptidos ricos en prolina.

Se contempla la posibilidad de realizar tratamiento con prednisona en los casos de crisis celiaca en pacientes celíacos pequeños, con mal estado general, anorexia, astenia y signos de

malabsorción grave; un curso corto de prednisona (2mg/Kg/día) durante 1-2 semanas suele ser útil.

## Calidad de vida

La calidad de vida de los pacientes con EC está muy en relación con el momento del diagnóstico y el cumplimiento de la dieta, ya que es en si misma la responsable de molestias crónicas y el desarrollo de nuevas dolencias que pueden interferir en su vida diaria. Los pacientes diagnosticados en la adolescencia muestran más problemas escolares y sociales que los que se diagnostican a otras edades.

## 1.12 Sensibilidad al gluten no celiaca (SGNC)

### Concepto y epidemiología

De mas reciente aparición es la sensibilidad al gluten no celiaca (SGNC) la cual se caracteriza por presentar variedades inmunológicas, morfológicas o de manifestaciones sintomáticas desencadenadas por la ingesta de gluten quedando excluida la EC (Ludvigsson JF y col., 2013).

Los pacientes con sensibilidad al gluten no tienen la EC, pero si experimentan síntomas al comer alimentos que contienen gluten.

Esta afección se caracteriza por incluir síntomas intestinales que a veces se diagnostican como SII que presentan en ocasiones también manifestaciones extraintestinales las cuales se dan tras la ingestión del gluten y cuyos síntomas desaparecen rápidamente una vez se elimina el gluten de su dieta (Gasbarrini G y col., 2014)

A diferencia de la EC, la SGNC puede mostrar signos de una respuesta inmune innata activada, pero sin datos de enteropatía, elevaciones en tTG, AAE o anticuerpos DGP, y el aumento de la permeabilidad de la mucosa característica de EC.

Dado que no se han estudiado pacientes diagnosticados de SGNC no insistiremos más sobre este síndrome

## Enfermedad Celiaca y metabolismo lipoproteico

Uno de los aspectos menos estudiados en la EC es la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en esta población. Entre los objetivos de la tesis es estudiar cual es la situación lipoproteica, de homocisteína y de riesgo cardiometabólico que puedan derivar de los cambios dietéticos relacionados con la eliminación de alimentos conteniendo proteínas encuadradas dentro del término “gluten”, así como la reducción de posibles alimentos en los que existe evidencia de alergenidad digestiva, no siempre relacionada con la EC, como pueden ser el pescado, huevo, leche de vaca, o el consumo de alimentos a los que se define de “difícil digestión” como las leguminosas. Por ello insistiremos en algunos aspectos claves del metabolismo lipoproteico, y la influencia de algunos componentes de la dieta sobre diferentes factores de riesgo cardiovascular y cardiometabólico estudiados en esta tesis. Especialmente en los AGPcω-3 y las vitaminas que participan en el control de la homocisteína.

### Ácidos grasos

Los lípidos son sustancias solubles en solventes orgánicos, son moléculas hidrófobas o anfipáticas (o anfílicas) que se originan a través de condensaciones completamente o en parte de tioésteres o unidades de isopreno-(Fahy E y col., 2005)

Para definir a los AG existen diversas nomenclaturas como la IUPAC (IUPAC-IUB comisión sobre la nomenclatura 1978), la cual se basa en nombrar a los ácidos teniendo en cuenta el número de átomos de carbono y el número y la posición de los dobles enlaces relacionada con el grupo carboxilo, se identifican también la posición de las cadenas ramificadas y los heteroátomos. Los dobles enlaces se nombran con la letra Z ó E según corresponda a *cis* o *trans*.

Se definen a los AG de la dieta con la denominación C: D, en la que la C representa el número de átomos de carbono y D el número de dobles enlaces.

Se utiliza también el sistema n-x, que hace referencia a la posición del doble enlace del AG que se encuentra más próximo al extremo metilo de la molécula, dicho sistema ha dado lugar a las series metabólicas tales como n-9 ( $\omega$ -9), n-6 ( $\omega$ -6) y n-3 ( $\omega$ -3) de gran utilización en el campo de la nutrición.

Los AG son necesarios en la nutrición humana como fuente de energía y para cumplir con funciones de carácter metabólico y/o estructural.

La ingesta de comidas ricas en grasa eleva la lipemia postprandial. La existencia de concentraciones elevadas de lípidos postprandiales se han relacionado con progresión en la aterosclerosis, riesgo elevado de trombosis, obesidad, resistencia a la insulina y diabetes tipo II.

En función del grado de insaturación los podemos clasificar en 3 grupos:

Los ácidos grasos saturados (AGS), los ácidos grasos monoinsaturados (AGM) y los ácidos grasos poliinsaturados (AGP).

Los ácidos grasos saturados se clasifican atendiendo a la longitud de su cadena en:

Ácidos grasos de cadena corta: De 3 a 6 átomos de carbono

Ácidos grasos de cadena media: De 7 a 12 átomos de carbono

Ácidos grasos de cadena larga: De 12 a 19 átomos de carbono

Ácidos grasos de cadena muy larga: Con 20 o más átomos de carbono

Estos ácidos grasos se encuentran mayoritariamente en la grasa láctea en el aceite de coco y palma y en la mayoría de las grasas y aceites, aunque en cantidades muy variables.

### **Ácidos grasos insaturados**

Se clasifican en monoinsaturados y poliinsaturados. Los ácidos grasos monoinsaturados presentan un doble enlace que varía en la posición en la molécula, existiendo por tanto múltiples isómeros posicionales. De ellos el más común es el oleico. Es un AG muy abundante en todos los alimentos, pero fundamentalmente en el aceite de oliva y en otros aceites miméticos del aceite de oliva. Existen otros AGM como el palmitoleico presente en aceites de origen marino. Aceite de macadamia y en la mayoría de aceites vegetales y animales otros son el *cis*-vaccénico, erúcico, nervónico. De gran importancia actual son las grasas trans, siendo el AGM trans más representativo el ácido eláidico (C18:1, n-9 trans) muy abundante en margarinas obtenidas por hidrogenación parcial de aceites y grasas ricas en ácido linoleico.

### **Ácidos grasos poliinsaturados.**

Los PUFA en configuración *cis* se dividen en doce familias pero las más relevantes son los de las series n-6 y n-3.

Dentro de la familia de los n-6, el AGE es el ácido linoleico (LA) el cual es el precursor de la misma. El ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA) es el precursor de los n-3. En la grasa de la dieta se encuentran tanto el LA como el ALA (White, 2008) aunque este último en cantidades mucho más reducidas. Las nueces, el aceite de soja y colza particularmente son ricos (menos de un <15% del total del Iso AG) en ácido ALA

El AA se encuentra en menor cantidad en carnes, huevos, pescado, algas y otras plantas acuáticas (Wood JD y col., 2008; Ackman, 2008a), De los n-6 el ácido araquidónico (AA) es el principal precursor de los eicosanoides.

Los pescados fundamentalmente los grasos son ricos en EPA y DHA, siendo dos de los ácidos grasos más importantes (Ackman, 2008a). Del EPA derivan eicosanoides de enorme importancia a nivel sistémico, mientras que del DHA docosanoides con especial relevancia a nivel del metabolismo y protección del sistema cerebrovascular.

Desde hace algún tiempo cobran importancia los AG de la dieta secundarios y poco comunes como el ácido linoleico conjugado (CLA) (Tricon S y col., 2005), los isómeros del ácido linolenico conjugado (CLN) (Tsuzuki T y col., 2004) y los ácidos grasos con anillo de furano (Spiteller., 2005), debido a que son beneficiosos para la salud, aunque el consenso sobre este tipo de grasa no es uniforme.

### 1.13 Digestión, absorción y transporte de grasas.

La digestión requiere de una coordinación de una serie de procesos presentes en nuestro organismo. Comienza con la masticación donde los alimentos se mezclan con la saliva que contiene lipasa lingual, seguida de una hidrólisis efectuada por la lipasa gástrica presente en el estómago, para culminar la digestión de las grasas mediante la acción de la lipasa pancreática en el intestino delgado, donde los triglicéridos se convierten en 2 monoacil sn glicerol y ácidos grasos libres, la formación de 2 mono sn glicerol facilita la absorción PUFA en la posición sn 2 y la retención de estos AG en los glicerolípidos que se generan y se transfieren posteriormente a los tejidos. La hidrólisis de los fosfolípidos produce sn 1 lisofosfolípidos y ácidos grasos libres (AGL). Los ésteres de colesterol se hidrolizan a colesterol y AGL.

En la digestión de los AG, ocurre que los que son de cadena corta se absorben por el intestino y no forman parte de las lipoproteínas, y llegan al hígado a través de la vena porta donde se oxidan con facilidad (Gurr ML y col., 1991).

### Metabolismo de las lipoproteínas:

Los lípidos plasmáticos, debido a su insolubilidad en medio acuoso, circulan unidos a proteínas específicas llamadas apolipoproteínas (Apo) formando complejos macromoleculares denominados lipoproteínas. En el interior de las lipoproteínas se encuentran los lípidos más apolares (colesterol esterificado y triglicéridos) mientras que en la parte periférica se localizan los lípidos más polares (fosfolípidos y colesterol libre) junto con diferentes Apos.

Las proteínas constituyentes de las lipoproteínas presentan fundamentalmente dos funciones: Participan en las interacciones con los receptores y enzimas a las que se llaman Apos y las que ejercen alguna función como la enzima lecitín-colesterol-acil-transferasa o las proteínas intercambiadoras de lípidos, y de protección contra toxicidad o frente agentes oxidantes como la Paraoxonasa y su actividad arilesterasa (Canales y Sánchez-Muniz, 2003).

No obstante, no debe olvidarse que todas las lipoproteínas contienen hidratos de carbono cuya función no es muy bien conocida pero que se relaciona, entre otros aspectos con el reconocimiento de receptores.

Las lipoproteínas se pueden clasificar en base a diferentes criterios (motilidad electroforética, densidad de flotación, tamaño, contenido y variedad de Apos. En general se acepta la existencia de cuatro grupos principales de lipoproteínas atendiendo a su densidad de flotación en gradientes salinos de densidad: quilomicrones (Q), Lipoproteínas de muy baja

densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), y lipoproteínas de alta densidad (HDL).

En la **Tabla 4** se resumen las características más destacadas de los cuatro tipos principales de lipoproteínas. No obstante, debemos indicar que aunque peor conocidas, existen otras lipoproteínas como las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y las Lipoproteínas (a) [Lp(a)] con funcionalidad y características metabólicas particulares, que si se encuentran en concentraciones elevadas pueden incrementar de forma importante el riesgo cardio y cerebrovascular.

**Tabla 4.**

Características de las principales lipoproteínas.<sup>2</sup>

	Q	VLDL	LDL	HDL
<b>Tamaño (A)</b>	750-10.000	300-800	210-220	75-100
<b>Densidad (g/mL)</b>	<0,95	0,95-1,006	1,006-1,063	1,063-1,210
<b>Movilidad EF</b>	Origen	Pre $\beta$	$\beta$	$\alpha$
<b>Origen</b>	Intestino/ Hígado	Hígado	VLDL	Hígado/Intestino
<b>Función</b>	Transporta TG exógenos	Transporta TG endógenos	Transporta colesterol a células periféricas	Transporte reverso de colesterol al hígado
<b>Apolipoproteínas</b>	B-48, A-1, A- 2, C, E	B-100, C, E	B-100	A-1 A-2, C

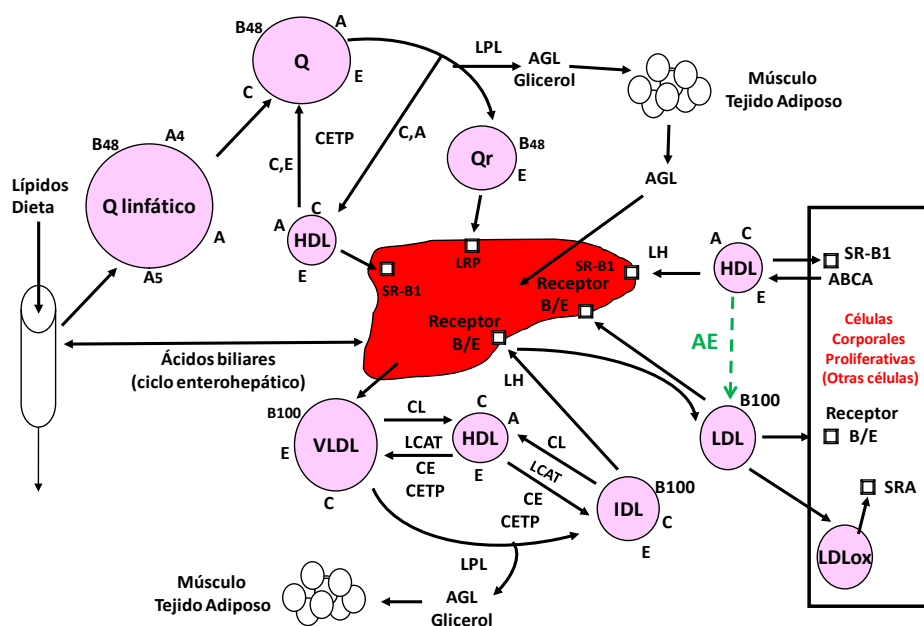
Q: quilomicrones, VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad, LDL: lipoproteínas de baja densidad, HDL: lipoproteínas de alta densidad, EF: electroforesis, TG: triglicéridos.

También se han definido diferentes subpoblaciones de VLDL, IDL, LDL y HDL atendiendo a algunas características fisicoquímicas como densidad, tamaño, carga y contenido en lípidos y Apos. No obstante, por el contenido y análisis realizados en esta memoria de Tesis Doctoral no incidiremos en estos subtipos lipoproteicos.

En el metabolismo lipoproteico se han definido tres rutas principales (Figura 1.9):

1. Transporte de los lípidos de la dieta hasta el hígado
2. Transporte de los lípidos hepáticos a los tejidos periféricos
3. Transporte reverso del colesterol.

Estas rutas son interdependientes, por lo que modificaciones en una de estas vías influirá en la función y productos de las otras dos. Las mutaciones en las moléculas transportadoras o receptores pueden llevar a una acumulación de colesterol y/o TG, y a una modificación en el proceso normal de transporte reverso del colesterol y metabolismo del colesterol (Kwiterovich PO, 2000).



**Figura 17.** Principales rutas del metabolismo lipoproteico. ABC: transportador “ATP” binding cassette, AE: arilesterasa, AGL: ácidos grasos libres, apo: apolipoproteína, CE: colesterol esterificado, CETP: complejo de transferencia de ésteres de colesterol, CL: colesterol libre, HDL: lipoproteínas de alta densidad, IDL: lipoproteínas de densidad intermedia, LCAT: lecitin colesteroil acil-transferasa, LDL: lipoproteínas de baja densidad, LDLox: LDL oxidadas, LH: lipasa hepática, LPL: lipoproteína lipasa, LRP: proteína receptora de quilomicrones parecida a LDL, Q: quilomicrones, Qr: quilomicrones remanentes, SRA: receptor *scavenger* tipo A, SR-B1: receptor *scavenger* tipo B1, VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad (Tomado de Eva Gesteiro. Tesis Doctoral, 2015).

## 1. Transporte de los lípidos de la dieta hasta tejido adiposo, músculo e hígado

El transporte de los lípidos dietéticos se realiza fundamentalmente por los QM (**Figura 18**) los cuales transportan los ácidos grasos a los tejidos donde serán utilizados o almacenan. Se sintetizan en el intestino a partir de los componentes de los triglicéridos, fosfolípidos y colesterol libre y esterificado de la dieta. Tras el ataque por enzimas de origen pancreático se originan ácidos grasos, monoglicéridos, lisofosfolípidos y colesterol, los cuales en unión de colesterol biliar y sales biliares se incorporan a micelas y se absorben. En el interior del enterocito dan lugar de nuevo a triglicéridos, colesterol esterificado y fosfolípidos. Los triglicéridos y el colesterol junto a la Apo B-48, sintetizada en el intestino (Kane y cols., 1980), varias Apo A (I, II, IV, V) y lípidos polares (fosfolípidos y colesterol) forman los Q. Estos Q “nacientes” pasan a la linfa y luego a la sangre donde adquieren de las HDL las Apo C y E (Green y Riley, 1981). En el tejido adiposo y muscular la enzima lipoproteína-lipasa hidroliza los TG de los Q (Nilsson-Ehle y cols., 1980) produciendo ácidos grasos libres y glicerol que son captados por los adipocitos y el músculo (fundamentalmente estriado) y residuos de Q, los cuales son captados por receptores específicos hepáticos.

## 2. Transporte de los lípidos hepáticos a los tejidos periféricos

Las VLDL se sintetizan mayoritariamente en el hígado a partir de los residuos de los Q y del metabolismo de “novo” (p.ej. a partir de hidratos de carbono). También la llegada al hígado de ácidos grasos del tejido adiposo constituye una señal muy potente para la síntesis de TG que se incorporan a las VLDL.



En la metabolización de las VLDL (**Figura 17**) se producen IDL, cuya vida media es muy corta. Esta transformación es muy compleja e implica activación de enzimas como la lipoproteín-lipasa, esterificación de colesterol, transferencia de lípidos de las VLDL a las HDL y viceversa (Armesto y cols., 2011). La transformación de IDL en LDL está mediada por la acción de la lipasa hepática, después que las IDL sean reconocidas por receptores específicos de ApoB100/ApoE e internalizadas en el hígado.

Las LDL son las mayores transportadoras de colesterol a los tejidos periféricos (Parks y Bullock, 1987). Estos tejidos captan las lipoproteínas a través de unos mecanismos específicos dependiente del receptor Apo B100/Apo E (Brown y col., 1984). Está aceptado que altos niveles séricos de LDL suponen un factor de riesgo de ECV (Sánchez-Muniz y cols., 2001) y que individuos con un perfil lipoproteico plasmático caracterizado por un predominio de partículas LDL pequeñas y densas tiene tres veces más riesgo de padecer enfermedad coronaria, ya que LDL más pequeñas y densas tienen mayor probabilidad que las LDL grandes de ser captadas por el tejido arterial y poner en marcha el proceso aterosclerótico y son menos resistentes a la oxidación si se las compara con las LDL de mayor tamaño. La explicación a este comportamiento se basa en una posible alteración de las propiedades de la capa lipídica asociadas a una disminución del contenido de colesterol libre, de antioxidantes y/o un aumento de AGP (Berneis y Krauss, 2002).

Dentro de la capa íntima arterial las LDL sufren modificaciones en su parte proteica (p.ej. la Apo B se fragmenta en péptidos más pequeños que pueden reaccionar con moléculas oxidadas) (Mesa y cols., 2006) y en la fracción lipídica, originándose LDL-oxidadas (LDLox) (Sánchez-Muniz y col., 2011). La conversión oxidativa de las LDL en LDLox es un proceso clave en el inicio y desarrollo de la lesión aterosclerótica temprana (Steinberg D, 1997), ya que favorecen entre otros aspectos la migración de las células musculares a la íntima, la entrada de monocitos y transformación a macrófagos, la formación de linfoquinas proinflamatorias y de sustancias que pueden originar la inestabilidad y rotura posterior de la placa ateromatosa.

### 3. Transporte reverso del colesterol.

Las HDL son lipoproteínas más pequeñas y densas. En este grupo se encuentra una variedad muy diversa con distintas composiciones lipídicas y proteicas y con distinta densidad, tamaño y carga (Asztalos y cols., 2005). Estas diferencias entre las HDL se traducen en funciones fisiológicas también distintas.

Las HDL transportan el colesterol desde los tejidos periféricos al hígado para su excreción o degradación en forma de ácidos biliares mayoritariamente, pero también puede incorporarse a nuevas lipoproteínas (Kekki M, 1980). Las HDL que contienen Apo A1 pueden unirse a receptores de macrófagos y otro tipo de células. Pueden captar el colesterol no esterificado del citoplasma celular y secretarse como una forma de HDL más rica en colesterol. Se sugiere que las formas más densas de HDL son las que actúan así (Oram y cols., 1981).

Los efectos beneficiosos de las HDL en cuanto a la protección frente a aterosclerosis hallada en varios estudios epidemiológicos como el Framingham o el Bogalusa Heart Study se han corroborado bioquímicamente, observándose cuatro mecanismos potenciales para explicar este efecto cardioprotector de las HDL: transporte reverso del colesterol, inhibición de la oxidación de LDL, reducción de los niveles de proteínas de adhesión y aumento de fibrinólisis (Kwiterovich PO, 2000). No obstante debe señalarse que no debe generalizarse sobre la capacidad antiaterogénica de las HDL ya que esta propiedad depende de su contenido en diferentes Apo (particularmente de Apo AI y ApoAII, de su contenido en un enzima antioxidante la paraoxonasa). Así, las HDL enriquecidas en Apo AII, parecen ejercer una protección muy limitada cardiovascular debido a que la ApoAII es inhibitoria de la enzima lecitina-colesterol-acil-

transferasa (LCAT) e incluso ser promotoras de la formación de la estría grasa, primera etapa de la formación de la placa de ateroma (Fuchart y cols., 1994).

## Otros marcadores de riesgo

### Homocisteína.

La homocisteína (tHcys) es un aminoácido no esencial que se sintetiza en el organismo a partir de la metionina. Las proteínas de la dieta, particularmente las de origen animal, son la única fuente de metionina. Una vez en el hígado la tHcys puede seguir dos vías: a) Remetilación que permite a la tHcys transformarse de en metionina por acción de la enzima metionina-sintasa dependiente de la vitamina B<sub>12</sub> y del N-5-metil-tetrahidrofolato que actúan como cofactores y b) Transulfuración, en la que la tHcys se une a la serina para dar lugar a la cisteína cuyo exceso se oxida a taurina, o a sulfatos o, directamente, se elimina por orina. Este es un proceso catalizado por la enzima cistationina β-sintasa teniendo a la vitamina B<sub>6</sub> como cofactor (Welch y Loscalzo, 1998). En la coordinación de ambas vías participa la s-adenosilmetionina, la cual es la única fuente de grupos metilo para todas las reacciones de metilación dentro de la célula que se convierte en s-adenosilhomocisteína, al ceder los grupos metilo. Esta molécula puede generar tHcys. Por ello se deduce que altas concentraciones de tHcys están normalmente ligadas a una baja metilación, mientras que el folato y la vitamina B<sub>12</sub> aumentan dicho potencial, facilitando la conversión de tHcys en metionina. A su vez, como resultado de la ingesta de metionina puede modificarse la síntesis de s-adenosilmetionina y, por tanto el metabolismo de la homocisteína.

La oxidación de la tHcys plasmática origina homocistina, homocisteína tiolactona y otros compuestos, generándose además H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y especies reactivas del oxígeno (ROS) que son altamente reactivas y pueden inducir lesión endotelial y estimular la agregación plaquetaria lo que contribuye al proceso aterogénico. Las ROS son capaces de oxidar diferentes moléculas originando la formación de LDL oxidadas que tienen un efecto tóxico sobre la pared vascular, siendo fácilmente captadas por los macrófagos de la capa subendotelial. Una concentración excesiva de tHcys favorece además la formación de la homocisteína tiolactona que forma agregados con la LDL en el hígado, los cuales no son reconocidos por los receptores de Goldstein y Brown, pero si por los receptores scavenger presentes en los macrófagos contribuyendo a la formación de las placas de ateroma (McCully KS, 1996).

Cabe además citar que la tHcys origina disminución en la producción de óxido nítrico y provoca proliferación de las células musculares lisas de la pared vascular contribuyendo al reclutamiento de monocitos y a la trombosis (Soinio y cols., 2004).

Diferentes ensayos clínicos como el 'Heart Outcomes Prevention Evaluation' (HOP), 'The Heart Outcomes Prevention Evaluation' (HOPE 2), el 'Norwegian Vitamin Trial' (NORVIT) y el 'Vitamin Intervention for Stroke Prevention' (VISP) concluyeron que los suplementos vitamínicos redujeron los niveles de tHcys, pero no causaron una disminución significativa del riesgo cardiovascular (Toole y cols., 2004; Bona y cols., 2006). Por lo tanto no está plenamente sustentada la relación entre los niveles elevados de tHcys y el desarrollo de ECV. La asociación significativa de los niveles de tHcys con el riesgo de ECV sigue siendo motivo de debate (Wierzbicki, 2007) por lo que existe cierta controversia para interpretar el papel de la homocisteína en la aparición de este tipo de enfermedades.

### Factor de necrosis tumoral alfa.

El TNFα es una citoquina proinflamatoria producida principalmente por el tejido adiposo y el hígado. Sus niveles se encuentran elevados cuando hay un proceso inflamatorio o un daño celular considerable (Ferrante, 2007; Wiesber y cols., 2003).

**PCR.** De igual forma la proteína C reactiva es un marcador de inflamación muy utilizado. La mayoría de las enfermedades degenerativas (enfermedad cardiovascular, diabetes tipo II, tienen un origen inflamatorio con incremento de los niveles de PCR. No obstante, esta inflamación es de bajo grado y permanece a niveles de concentración bajos de forma crónica, lo que ha demandado la puesta en marcha de determinaciones muy sensibles para detectar niveles bajos (PCR de alta sensibilidad).

#### **Cocientes de riesgo.**

Aunque parece evidente el papel predictivo de los niveles de lípidos, lipoproteínas y Apos en el riesgo cardiovascular (Gutiérrez-Fuentes JA, 2016), la utilización de cocientes entre lipoproteínas y/o Apos, mantiene o incluso eleva tal predictibilidad. Así, merecen destacarse los cocientes de riesgo colesterol total/ HDL-colesterol (CT/HDLc), LDL-colesterol / HDL-colesterol, Apo A1/Apo B. También es de gran valor el cociente molar triglicéridos y colesterol HDL (TG/HDLc) (Criqui y Golomb, 1998). También se ha señalado que niveles elevados del índice triglicéridos-glucosa (TyG) son predictivos de resistencia a la insulina y de la presencia o no de Síndrome Metabólico (Unger y cols., 2014). Dado que en los pacientes con resistencia a la insulina existen cambios relevantes en el metabolismo lipoproteico y particularmente en la triada lipídica (niveles de triglicéridos y HDL-colesterol y presencia de LDL pequeñas) (Carmena, 2010) creemos que este índice podría además utilizarse como predictivo de riesgo cardiovascular.

#### **La dieta como determinante de salud. La dieta como factor de riesgo y factor protector cardiovascular.**

Según el diccionario de la Real Academia de la Lengua (DRAE, 2014), “dieta” es el conjunto de sustancias que regularmente se ingieren como alimento. La palabra “dieta” proviene del griego “*dayta*” que significa “régimen de vida” o “régimen alimenticio”, siendo Hipócrates y la escuela hipocrática los introductores de este concepto clave para la salud que implicaba un equilibrio entre lo que nutre (los alimentos) y lo que se gasta (actividad física). Los alimentos son sustancias sólidas o líquidas que una vez deglutidas aportan energía y nutrientes necesarios para producir movimiento, calor y energía, y para el crecimiento, la reparación tisular y la reproducción o bien para crear sustancias que regulen todo lo anterior (Zamora Navarro y cols., 2010). Por su parte, la ciencia de la nutrición estudia a los alimentos y los compuestos que contienen su metabolización y participación en los diferentes procesos fisiológicos de los seres vivos.

Según Bastida S (2005) la ingesta de energía y nutrientes depende de las necesidades dietéticas de cada organismo, de tal forma que una buena salud se basa en la combinación de una nutrición adecuada (a través de consumir una dieta equilibrada) con una correcta actividad física (mediante la práctica moderada de ejercicio).

Según la OMS (2003) la “salud” es un estado de bienestar físico, mental y social. Esta definición implica que la salud no es solo ausencia de enfermedad, sino un estado de buen funcionamiento del organismo tanto a nivel somático como psíquico.

Es por ello que la ingesta de alimentos busque cubrir los requerimientos de energía y nutrientes necesarios para realizar nuestras funciones fisiológicas, pero también para modular aspectos hedónicos que se matizan a través de vías de recompensa y de placer (Sánchez-Muniz, 2013).

En la **Tabla 5** se muestran los aspectos más importantes según Sánchez-Muniz, (2012) de la dieta junto con el ejercicio para reducir o mantener bajo el riesgo de ECV. El consumo adecuado de fruta y vegetales, característico de la dieta mediterránea (Serra-Majem y cols., 2004) hace

posible alcanzar los cuatro objetivos enumerados en dicha tabla: dieta saludable, peso corporal correctos, perfil lipoproteico aceptable y presión arterial adecuada, que define el profesor Sánchez Muniz (Sánchez-Muniz y cols., 2012). A estos cuatro puntos se podría también añadir un quinto objetivo relacionado con la resistencia a la insulina. Este quinto objetivo se cumpliría con aspectos que aparecen en los cuatro puntos anteriores como, el control del peso, la ingesta de hidratos de carbono de bajo índice glucémico, el consumo de ácidos grasos omega-3 del pescado más ácidos grasos monoinsaturados (AGM) y una ingesta baja de alcohol junto a la práctica de actividad física.

También en la **Tabla 6** y adaptado de un trabajo de este mismo autor y su equipo (Sánchez-Muniz y cols., 2013) se resume de forma cualitativa el efecto que tienen la energía, los macro y micronutrientes sobre diferentes factores de riesgo cardiovascular. Entre todos ellos, merecen destacarse los efectos, tanto a nivel del metabolismo lipoproteico, de la coagulación sanguínea y trombogénesis de los ácidos grasos saturados (AGS), AGM y AGP, ya que son parte fundamental del diseño y discusión de esta Tesis Doctoral.

Dado que a través de la dieta se pueden modificar diferentes factores de riesgo cardiovascular (**Tabla 5**) lo que afectaría, a su vez, a la salud cardiovascular, se incidirá brevemente en aquellos componentes nutricionales de los que existe mayor información bibliográfica y que pueden ser relevantes para la discusión de los resultados de esta Memoria de Tesis Doctoral.

**Tabla 5.** Aspectos centrales a considerar para reducir o mantener bajo el riesgo de enfermedad cardiovascular.

Perfil de consumo saludable	Peso corporal apropiado	Perfil correcto de lipoproteínas	Presión arterial adecuada
Consumir dieta mediterránea variada.	Adaptación del peso corporal e IMC <sup>(1)</sup> .	Adaptar de forma saludable el colesterol plasmático total, LDL-colesterol y triglicéridos a niveles por debajo de 200 mg/dL, 130 mg/dL, 110 mg/dL, respectivamente <sup>(2)</sup> .	Adaptar de forma saludable los niveles de presión arterial sistólica y diastólica por debajo de 130 y 85 mmHg, respectivamente <sup>(3)</sup> .
Incluir variedad de frutas y hortalizas (5 veces/día), cereales (4-6 veces/día), legumbres (2-4 veces/semana).	Balance energético/consumo. Ajuste el peso a IMC de 20-25 kg/m <sup>2</sup> <sup>(1)</sup> .	Limitar los alimentos ricos en grasas saturadas y colesterol.	Mantener el peso corporal adecuado.
Consumir productos lácteos bajos en grasa, pollo, pescado y carne magra.	Para bajar de peso, cuando sea necesario, seguir una dieta hipocalórica, preferiblemente dietas hipocalóricas equilibradas (tipo mediterráneo).	Consumir grasas insaturadas (preferiblemente monoinsaturadas y evitar el exceso de poliinsaturadas) de verduras, pescado, legumbres, frutos secos y similares.	Mantener una dieta variada y rica en verduras, frutas y alimentos con poca grasa láctea.
Controlar el aceite culinario.			Consumir pescado azul (2 veces/semana).
Comer 4-5 veces/día.	Evitar largos periodos de ayuno.		Disminuir el consumo de sal y alcohol.
Evitar largos periodos de ayuno.	Comer alimentos magros.	Mantener el peso corporal adecuado.	Controlar el aceite culinario.
Hacer ejercicio (al menos 30 min/día).	Controlar el aceite culinario. Hacer ejercicio (al menos 30 min/día).	Controlar el aceite culinario. Hacer ejercicio (al menos 30 min/día).	Hacer ejercicio (al menos 30 min/día).

Fuente: Celada P. Tesis doctoral ( ), basada en Sánchez-Muniz (2012). Para niños y adolescentes <sup>(1)</sup> usar tablas percentiladas nacionales en función del sexo y la edad (Fundación Faustino Orbegozo Eizaguirre); <sup>(2)</sup> Mantener los niveles de colesterol, colesterol LDL, y triglicéridos <175mg/dL, <110 mg/dL, and <100 mg/dL, respectivamente (American Academy of Pediatrics, 1998); <sup>(3)</sup> tablas percentiladas nacionales en función del sexo y la edad (Écija y Vázquez, 2001). IMC, Índice de masa corporal.

**Tabla 6.** Efecto de la energía, macronutrientes y otras sustancias sobre diferentes factores de riesgo cardiovascular.

	TC	LDLc	HDLc	TG	Presión arterial	Agregación	Disfunción Endotelial	Oxidación	Otros
Energía	↑↑		↑	↓			↓		↑Peso corporal
Grasa	↑↑	↑?	↑		↑?		↓		↑Factor VII
Ácidos grasos saturados (C12-C16)	↑↑↑	↑↑↑	↑		↑	↑	↑	↓↓	↑Resistencia insulina
Ácidos grasos monoinsaturados	↓↓	↓↓	↑		↓		↓	↓?	↓Fibrinolisis; ↓PAI
Ácidos grasos poliinsaturados n-6	↓↓↓	↓↓↓	↓↓		↓*	↓*	↓	↑↑	↑
Acidos grasos poliinsaturados n-3	↓?		↑	↓↓	↓↓	↓	↓	↓?	
Acidos grasos <i>Trans</i>	↑	↑	↓	↑	↑?	↑?			↑Lp(a); ↑ Resistencia insulina
Colesterol	↑	↑	↑ <sub>w</sub>						
Alcohol*	↓	↓	↑	↓	↓	↓	↓	↓↓	Varios efectos
Carbohidratos digeribles			↓	↑↑**	↓	↓	↓	↓↓	** Resistencia insulina
Protein Vegetal/Pescado	↓		↑	↓			↓		↑ (NO)
Proteína animal	↑	↑					↓		
Fibra	↓	↓			↓				
Fitosteroles	↓↓	↓↓					↓	↓?	↓Antioxidantes
Folato/vitamin B <sub>12</sub> /Vitamin B <sub>6</sub>						↓?	↓		↑Homocisteína
Vitamina E	↓?					↓	↓	↓	
Ca	↓				↓				
Cociente Zn/Cu	↑	↑							
Polifenoles*	↓	↓	↑	↓	↓	↓	↓	↓↓	La mayoría <i>in vitro</i>
Café	↑↑***	↑↑***	↓***	↑↑***	↓?	↓?		↓↓	

Fuente: Celada P. Tesis doctoral ( ), basada en Sánchez-Muniz y cols. (2013). El número de flechas sugieren la magnitud del cambio (Opinión informativa de los autores). \*Alto consumo; wEfectos en mujeres; \*\*Fructosa; \*\*\*Cafestol y Kawheol (diterpenos del café); ↓? o ↑?, Evidencia científica limitada; TC, colesterol total; LDLc colesterol transportado por LDL; HDLc, colesterol transportado por HDL; TG, triglicéridos; PAI, factor inhibidor del activador del plasminógeno; Lp(a), lipoproteína (a).

## **Energía.**

El consumo excesivo de energía está directamente relacionado con la obesidad, el síndrome metabólico y las modificaciones del perfil lipoproteico (Sánchez-Muniz y cols., 2013; Sánchez-Muniz, 2016). El control de peso contribuiría a mejorar la resistencia a la insulina, que es un factor clave en el síndrome metabólico en el que confluye también la obesidad, la dislipemia, la hiperglucemia e hipertensión, contribuyendo significativamente al riesgo cardiovascular (Serrano-Ríos y cols., 2011). Además, tanto la obesidad como el síndrome metabólico y sus componentes tienen su origen en un cuadro inflamatorio (Serrano-Ríos y cols., 2011).

Otro factor dietético importante es la cantidad de grasa consumida y su contribución a la energía total. En algunos pacientes una marcada disminución en la cantidad de grasa ingerida aumenta los niveles séricos de TG y disminuye las concentraciones de HDLc y LDLc (Schaefer, 2001) (Tabla 6). Las pautas dietéticas actuales recomiendan una contribución de las grasas a la energía total en el intervalo de 20 a 35% (FAO/OMS 2010)

## **Ácidos grasos.**

Dentro de los lípidos se encuentran los TG, fosfolípidos y esteroides, como el colesterol. Los TG son la forma más común de almacenar grasa. Su alta densidad de energía y baja hidrosolubilidad los convierten en la fuente lipídica de energía más importante de los alimentos y la principal forma de almacenamiento de energía en el tejido adiposo (Bangert, 1995). Aunque los ácidos grasos presentan multitud de formas y estructuras –ramificados, no ramificados, de cadena impar o par, saturados, insaturados, con simonomerías geométricas y posicionales- para facilitar la lectura de esta sección, se hablará de AGS, AGM y AGP. , con especial mención de los ácidos grasos de la familia omega-6 y omega-3.

## **Ácidos grasos saturados.**

La mayoría de las grasas animales son ricas en AGS de cadena larga (igual o superior a 12 C), aunque algunos aceites vegetales también contienen porcentajes elevados de AGS. Los AGS de cadena corta y media, presentes principalmente en los productos lácteos, promueven efectos contradictorios sobre los niveles séricos de colesterol y TG (Sáyago-Ayerdi y cols., 2008). Los AGS de cadena larga más abundantes son el ácido palmítico, seguido del esteárico, mirístico y láurico. El ácido esteárico tiene poco efecto sobre la concentración de colesterol plasmático, mientras que el mirístico y palmítico son potentes hipercolesterolemiantes (Mensink y Katan, 1992; Sánchez-Muniz y cols., 2013).

Los AGS aumentan las concentraciones de LDLc reduciendo los niveles y la actividad de los receptores para LDL (Dietschy, 1998; Sánchez-Muniz y cols., 2002). Cuando el colesterol de la dieta se mantiene constante, AGS vs. AGM y AGP vs. hidratos de carbono, también aumentan los niveles de HDLc, tanto en animales como en humanos (Brousseau y cols., 1993; Cuesta y cols., 1998). Pero también hay que tener en cuenta que los AGS presentan una baja susceptibilidad a la oxidación con lo que las LDL, al tener una mayor concentración de AGS, tendrán un bajo nivel de peróxidos (Cuesta y cols., 1998; Mata y cols., 1997). Además, una dieta rica en AGS vs. una dieta mediterránea rica en AGP, o la dieta del 'National Cholesterol Education Program paso 1' (NCEP-1) rica en hidratos de carbono, reduce la captación de glucosa por parte de las células promoviendo resistencia a la insulina (López-Miranda y cols. 2010; Pérez-Jiménez y cols., 1998). Por otra parte se ha demostrado que ingestas de alimentos ricos en AGS incrementan la presión arterial (MacLver y cols., 1990).

Las recomendaciones de ingesta de AGS son de <10%En para la población en general (FAO/OMS, 2010) y <7%En para los individuos con hipercolesterolemia (Krauss y cols., 2000)

## **Ácidos grasos monoinsaturados.**

Numerosas investigaciones han mostrado que sustituir en la dieta los AGS por AGM produce efectos hipocolesterolemiantes (Brousseau y cols., 1993; Cuesta y cols., 1998). En estudios humanos se encuentra que la sustitución de AGS por AGM no reduce los niveles LDLc y/o HDLc tanto como los (López-Miranda y cols., 2010). Los datos globales indican que los AGM no bajan tanto los niveles de HDLc y LDLc como lo hacen los AGP respecto a los AGS (Brousseau y cols. 1993; Cuesta y cols., 1998). Además, los AGM tienden a elevar los niveles de HDLc cuando sustituyen a los AGP de la familia omega-6 (Sánchez-Muniz y cols., 2013).

Katan y cols., (1997) crearon cierta polémica cuando hablaron de las restricciones de la grasa en la prevención de ECV. Estos investigadores sugieren que una dieta relativamente rica en grasa (40%En) pero enriquecida en AGM (20%En) ofrecía una mayor protección ante la ECV que una dieta pobre en grasa (20%En). En un estudio secuencial de cuatro periodos, donde el único componente alimenticio sustituido fue el aceite culinario (una mezcla de aceite de girasol y aceite de oliva, aceite virgen extra, aceite de girasol alto oleico y oleína de palma) se observó que el perfil lipoproteico y el antitrombogénico mejoraron sensiblemente durante el periodo con aceite de oliva extra debido a su alto contenido en ácido oleico, seguido del periodo de aceite de girasol alto oleico (Sánchez-Muniz y cols., 1998).

### **Ácidos grasos poliinsaturados.**

Los AGP, especialmente los de las familias omega-6 y omega-3, tienen una gran importancia nutricional. El término omega se refiere a la posición de la primera insaturación contando a partir del grupo metilo terminal de la cadena del ácido graso (Sánchez-Muniz, 2003). El ácido linoleico (18:2 n-6) y el ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3 n-3) son los ácidos grasos esenciales de las familias omega-6 y omega-3, respectivamente.

Los aceites vegetales (donde se incluyen también los de semillas), excepto los aceites de coco y de palma, son ricos en AGP omega-6, especialmente en ácido  $\alpha$ -linoleico (ALA). Dicho ácido graso tiene efecto hipocolesterolemiantes y reduce tanto los niveles de LDLc como de HDLc. Sin embargo, el ácido araquidónico (20:4 omega-6) tiene un efecto casi nulo sobre las lipoproteínas plasmáticas (Papazafiropoulou y col., 2012). Por otra parte, un alto consumo de ALA, si se compara con el ácido oleico, puede incrementar la oxidación de las LDL e inducir la inflamación y la adhesión molecular. Además, una ingesta elevada de este ácido estimula la agregación plaquetaria produciendo TXA<sub>2</sub> aumentando así el riesgo de ECV (López-Miranda y col., 2010). También el ácido araquidónico, promueve la formación de PGI<sub>2</sub>, un vasodilatador que podría considerarse como un factor protector frente a ECV (Sánchez-Muniz y col., 2003), pero también de prostaglandinas de la serie 2 y leucotrienos de la serie 4 con efectos metabólicos y fisiológicos relevantes (Sánchez-Muniz y Bastida, 2013).

El ácido  $\alpha$ -linolénico, ácido graso madre de la familia omega-3, es poco abundante en los alimentos que consumimos, encontrándose en cantidades relevantes en algunos aceites, como el de soja y chía, y en las nueces. Tiene unos efectos sobre las lipoproteínas muy parecidos a los del ALA (Lunn y Theobald, 2006).

Respecto a los ácidos grasos omega-3 de cadena muy larga, especialmente el EPA, que se encuentra sobre todo en el aceite de pescado, disminuyen los niveles de TG y los de las VLDL, e incrementa ligeramente los de HDL, mientras que los efectos sobre las LDL son contradictorios (Harris, 1997). Ingestas elevadas de EPA se asocian con una disminución de la agregación plaquetaria y de la presión sanguínea. Las recomendaciones de la OMS (FAO/OMS, 2010; Sánchez-Muniz y Bastida, 2013) indican una ingesta de AGP entre 6 y 11%En.



### **Ácidos grasos *trans*.**

En la actualidad, la industria alimentaria tiene como objetivo fundamental reducir al máximo el contenido de ácidos grasos *trans* en los alimentos procesados (Katan y col, 1995). Estos ácidos grasos se producen, fundamentalmente, por hidrogenación parcial de aceites. En la actualidad, margarinas y otros aceites de uso, sobre todo industrial, contienen poca cantidad de ácidos grasos *trans* (fundamentalmente ácido elaídico, *trans* 18:1 omega-9). Como se observa en la **tabla 6** el consumo de ácido elaídico, en comparación con el ácido oleico o el ALA, incrementa los niveles de LDLc y Lp(a) y reduce los de HDLc (Mensink y col., 1992), e inducen resistencia a la insulina (Cascio y col., 2012; Thompson y cols., 2011). Las recomendaciones actuales para el consumo de ácidos grasos *trans* se han fijado en <1% (FAO/OMS, 2010).

### **Colesterol.**

Muchos estudios están demostrando que el colesterol de la dieta, en comparación con el de los ácidos grasos, tiene un papel secundario en la regulación de los niveles de colesterol sérico. De todas formas ambos actúan sinérgicamente sobre la colesterolemia (Sánchez-Muniz y Nus, 2008). En la actualidad se sigue aceptando como objetivo de salud ingestas diarias de colesterol <300 mg (FAO/WHO, 2010).

### **Hidratos de carbono.**

Los hidratos de carbono son componentes fundamentales de nuestra alimentación, su ingesta excesiva, sobre todo en forma de hidratos de carbono refinados o de alto índice glucémico, afectan al perfil lipoproteico (tabla 6). Se ha comprobado que la fructosa incrementa de manera importante los niveles de TG y de VLDL, disminuye los de HDLc e induce insulinoresistencia (Schaefer y cols., 2009; Bantle, 2009). Además, una dieta mediterránea con cantidades adecuadas de hidratos de carbono complejos y AGM estimula una mejor respuesta postprandial grasa y de glucosa (Pérez-Guisado y cols., 2008).

### **Proteínas.**

El papel de las proteínas en el perfil lipoproteico y de los factores de riesgo cardiovascular es poco conocido y es menos relevante que el que tienen los ácidos grasos. Las proteínas procedentes de alimentos de origen animal elevan más el colesterol VLDL (VLDLc) y LDLc que las procedentes de alimentos de origen vegetal y de las proteínas de pescado. Esto parece ser debido a la diferencias en la composición de aminoácidos. Las proteínas de origen vegetal y las del pescado presentan un cociente lisina/arginina mucho menor que podría explicar, en cierta medida, estos efectos hipocolesterolemiantes (Vázquez y Sánchez-Muniz, 1994). Además, se ha sugerido que algunos oligopéptidos obtenidos de fuentes proteicas (leche, pescado, huevos, carnes) ejercen efectos antihipertensivos, muy probablemente a través de la inhibición que ejercen sobre la enzima convertasa de la angiotensina (Sánchez-Muniz y cols., 2013).

### **Minerales.**

Los minerales ejercen efectos diversos sobre las ECV. Klevay estableció una hipótesis según la cual altos cocientes de Zn/Cu en la dieta serían hipercolesterolemiantes (Klevay, 1975). Otras investigaciones han encontrado en sangre de cordón umbilical que el cobre, calcio, magnesio, hierro y cinc están correlacionados con los niveles de lípidos y lipoproteínas (Bastida y cols., 2000).

Mientras que el selenio protege las lipoproteínas de la oxidación, el hierro y el cobre han sido utilizados en estudios *in vitro* para promover la oxidación de las LDL y otras lipoproteínas (Ghaffari y cols., 2011). Otros minerales tienen un papel importante en la regulación de la presión arterial. A este respecto, especial mención merecen el sodio y el potasio. Ingestas

elevadas de magnesio y calcio disminuyen la presión arterial (Sánchez-Muniz y cols., 2013b). El cromo en la dieta disminuye la colesterolemia y mejora la sensibilidad a la insulina (Albarracín y cols., 2007).

### **Vitaminas.**

Las vitaminas, particularmente las hidrosolubles, son fundamentales para una buena metabolización de hidratos de carbono, grasa, proteínas y alcohol. Sin embargo no abundan los estudios que relacionan cambios en el perfil de vitaminas con los niveles de lípidos y lipoproteínas plasmáticos o de otros factores de riesgo cardiovascular. Entre las vitaminas más estudiadas se encuentran las que tienen efecto antioxidante y las que modulan la concentración de tHcys. Así la combinación de las vitaminas B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> y el ácido fólico pueden disminuir los niveles de tHcys (Albert y cols., 2008).

La vitamina E y la vitamina C son potencialmente buenas protectoras de ECV (Lee y cols., 2005), ya que una combinación de vitaminas E, C y carotenos mantiene en niveles bajos la oxidación de las LDL y por tanto el riesgo de aterogénesis. (Lee y cols., 2005). Aunque menos conocido, la vitamina D ejerce un importante papel protector frente a las ECV (Pilz y cols., 2011)

### **Otros compuestos.**

En este apartado se destacará, fundamentalmente, aquellos compuestos con carácter antioxidante o hipocolesterolemiante. Entre los primeros se encuentran los carotenoides, flavonoides, polifenoles y compuestos azufrados (Gómez-Juaristi y cols., 2011). Entre los segundos, los esteroides de plantas, que disminuyen de manera marcada los niveles de LDLc y apo B, pero pueden tener efectos negativos ya que bloquean parcialmente la absorción de carotenos, carotenoides y posiblemente tocoferol (Sánchez-Muniz y cols., 2009). Aunque al consumo de café se le atribuyen potentes efectos antioxidantes por sus polifenoles, debe señalarse que la presencia en cafés concentrados de los diterpenos kahweol y cafestol, incrementan significativamente los niveles de TG y LDLc (Carru y cols., 2011; Sánchez-Muniz y cols., 2013). Muchos compuestos bioactivos ejercen efectos moduladores sobre la concentración de citoquinas (TNF $\alpha$ ) que afectarían al componente inflamatorio de las enfermedades degenerativas, como es la ECV (Gordillo Bastidas y Gordillo Bastidas, 2015).

### **Biomarcadores de la ingesta y del estado nutricional de los ácidos grasos omega-**

Los biomarcadores nos sirven como indicadores del estado nutricional y de la ingesta dietética.

Se utilizan cuestionarios de frecuencia de alimentos (CFC), como el del recordatorio de 24 horas que nos sirven como herramientas para la estimación de la dieta y la evaluación de riesgos asociados, no obstante son métodos indirectos sujetos a posibles limitaciones en la recogida de la información, sesgos de memoria, errores en la medición, variabilidad intrasujeto entre otros (Bates CJ y col., 1997; Willett WC, 1998; Cantwell MM, 2000; Hebert JR y col., 1997), lo que nos puede llevar a sobreestimar el consumo de energía y de nutrientes o a subestimarlos, incluso las tablas de composición de alimentos o bases de datos pueden no contener el nutriente de interés o presentar variaciones en el contenido nutricional de un mismo alimento por diferencias en las condiciones de cultivo o en el proceso de cocción (Fidanza F, 2002; Wild CP y col., 2001) lo que termina traducándose en sesgos de estimación de la ingesta dietética.

La validez de los CFC puede mejorarse utilizando una variedad de técnicas. Una alternativa es el uso de biomarcadores, cuya principal ventaja reside en el hecho de que realicen mediciones más objetivas y exactas de la ingesta dietética (Hunter D, 1998; Gibson RS, 1990).

Los marcadores biológicos nos tienen que proporcionar mediciones cuánticas que nos informen de forma clara de la cantidad de nutriente disponible tras su absorción y metabolismo y que quede disponible para su absorción en los tejidos (Potischman N, 2003), también se han utilizado para la validación de cuestionarios dietéticos (Potischman N, 2003). Los biomarcadores reflejan factores tanto endógenos como exógenos lo que les hace difíciles de interpretar además de estar supeditados a la toma, procesamiento, conservación de la muestra y a la propia variabilidad del método utilizado, son preferibles biomarcadores que sean accesibles, sensibles a pequeñas diferencias en la ingesta (Willett WC, 1998) ningún biomarcador ha podido reflejar con precisión la ingesta absoluta de grasa, en gran parte, debido a la síntesis endógena de AG y al complejo metabolismo de éstos; en parte, la velocidad de respuesta a los cambios de ingesta depende de la muestra biológica utilizada para realizar las determinaciones (Serra-Majem L y col., 2001).

Los tejidos de almacén como hígado, tejido adiposo o médula ósea son los que mejor reflejan a largo plazo la ingesta, pero presentan el inconveniente de su obtención dado su carácter invasivo, la sangre es el medio más utilizado por ser fácilmente accesible, se puede utilizar la sangre entera pero la mayoría de las veces se realizan las determinaciones en suero, plasma o eritrocitos. Los AGPI  $\omega$ -3 en su mayoría son exógenos por la escasa síntesis en el organismo por ello el consumo en la dieta y los suplementos son la fuente principal y las correlaciones con los biomarcadores son más fáciles (Hodge AM y col., 2007; Arterburn LM y col., 2006).

Para medir dichos AGPI se pueden utilizar diversos biomarcadores como:

*Ácidos grasos libres en suero o plasma.* La extracción de sangre para análisis de los lípidos séricos es sencilla y está bien aceptada (Ma J y col., 1995). Los lípidos séricos representan una medida a corto y medio plazo de semanas a meses (Katan MB y col., 1997) y pueden usarse como biomarcadores de ingesta habitual en estudios epidemiológicos a gran escala (Kaaks R y col., 1997).

#### *Componentes de membranas de los eritrocitos*

Los eritrocitos proporcionan una indicación de los últimos 120 días de ingesta de AGPI  $\omega$ -3.

#### *Ésteres de colesterol y ácidos grasos de fosfolípidos*

Los ésteres de colesterol y AG de fosfolípidos reflejan la ingesta dietética de los últimos días (Kohlmeier L, 1995).

#### *Componentes de triglicéridos circulantes.*

Los datos que medimos en suero o plasma referentes a los triglicéridos son reflejo de la ingesta dietética de las últimas horas y vienen, por tanto, determinados por el tipo y cantidad de grasa ingerida en las comidas recientes, por ello, no son los indicadores más apropiados.

#### *Tejido adiposo*

El tejido adiposo, bien de los glúteos, abdominal, subescapular, pectoral o de otra localización, es un buen medio para la medición de los AG como reflejo de ingesta dietética y almacenamiento de grasa a largo plazo cuando no hay pérdida de peso grave, es decir, en condiciones homeostáticas, la grasa subcutánea es el mejor método de referencia. La vida media de los AG en el tejido adiposo puede variar. Por los pocos estudios existentes al respecto se piensa que refleja la ingesta de grasa de los últimos 2 ó 3 años (Garry PJ y col., 1990). Sin embargo, una biopsia del tejido adiposo es poco factible para los estudios epidemiológicos o con gran número de pacientes. Las dificultades logísticas de la biopsia de este tejido pueden considerarse desproporcionadas en relación con la probable mejoría en la señal biológica.

#### *Diversas subfracciones de lipoproteínas*

Los quilomicrones reflejan la ingesta de grasa de la dieta que entra en la circulación enterohepática, se utilizan los fosfolípidos del plasma y la membrana de los eritrocitos como los biomarcadores más utilizados para validar el consumo de los AGPI

Se han atribuido efectos beneficiosos al consumo de AGPI  $\omega$ -3, en particular el EPA, 20:5  $\omega$ -3 y el DHA, 22:6  $\omega$ -3), que se encuentran sobre todo en pescados, mariscos carnes y huevos (Sullivan BL y col., 2006) se pueden consumir también en forma de suplementos dietéticos.

En diversos estudios se han utilizado como biomarcadores el EPA y el DHA para validar el EPA y el DHA ingeridos. Aunque el hombre es capaz de sintetizar de forma endógena EPA y DHA a partir del ácido precursor  $\omega$ -3 linolénico (18:3  $\omega$ -3) que se encuentra en el mundo vegetal, esta conversión es muy limitada (Plourde M y col., 2007). En general, las concentraciones de EPA y DHA en sangre, reflejan la dieta habitual de AGPI  $\omega$ -3 ingerido (Arab L, 2003)

### 1.14 Síntesis de novo de los ácidos grasos

Dicho proceso es la conversión de los hidratos de carbono que están en exceso en precursores de los AG.

Los productos de la síntesis de novo son esterificados con glicerol para formar TG. En el hígado estos TG se incorporan a las VLDL y son transportados a la circulación, en el tejido adiposo se almacenan en como gotitas de lípidos. Cuando se sigue una dieta baja en grasas pero rica en hidratos de carbono, el tejido adiposo presentará sobre todo AG con 16:0, 18:0 y 18:1 n-9, que son los principales productos de la síntesis de novo (Vemuri y col., 2008). En contraposición las personas que ingieren grandes cantidades de LA, acumularán dicho AG en tejido adiposo (Thomas y col., 1987), si por el contrario se produce una falta de LA y otros PUFA en la dieta, ocurrirá que el 18:1 n-9 se desatura más y tiene lugar el alargamiento de la familia n-9

Influye en la síntesis de novo el consumo de AG en la dieta, es probable que todos excepto los de cadena corta la inhiban (Vemuri y col., 2008), Influyen también otros factores como la dieta habitual, la actividad física, la genética, las hormonas...etc. En personas sanas la síntesis de novo aporta aproximadamente el 20% de los TG del tejido adiposo (Strawford y col., 2004).

### 1.15 Síntesis de LCPUFA a partir de LA y ALA

Los mamíferos no somos capaces de sintetizar LA y ALA, sin embargo las plantas si pueden sintetizarlos, por ello, los obtenemos de las plantas que tomamos en la dieta. A partir de la obtención de los mismos con la dieta se pueden transformar en las familias n-6 y n-3 de LCPUFA C20 y C22 mediante reacciones como desaturación y elongación (Moore SA y col., 1995; Sprecher H., 2002).

Las dos rutas independientes una de la otra y no hay reacción cruzada. Sin embargo, ambas rutas emplean las mismas enzimas, por lo que las dos series compiten por las transformaciones, puesto que el LA es el PUFA predominante en la dieta humana y la ingesta de ALA es generalmente baja, el plasma y los niveles celulares de los LCPUFA n-6 derivados del LA tienden a ser más altos que los niveles de LCPUFA n-3

*Rendimiento de la transformación.*

En los mamíferos, aunque tienen la capacidad de transformar el ALA en EPA y DHA dicho rendimiento de transformación es bajo sobre todo para el DHA. En general la ingesta de ALA va a aumentar el EPA y el DPA n-3, aunque el DHA aumenta poco en las fracciones del plasma o en la leche materna (Gerster.H y col., 1998; Li D y col., 1999; Mantzioris y col., 1994; Brenna JT., 2002; Li D y col., 2002; Francois y col., 2003; Burdge y col., 2005):

Existen gran cantidad de estudios donde se demuestra que cuando el consumo de ALA es elevado el DHA tiende a disminuir (Burdge GC y col., 2005). Se sabe que el rendimiento de la transformación del ALA en EPA es de un 0.2%, en DPA de un 0.13% y en DHA de un 0.05% (Pawlosky y col., 2001). Existen varias hipótesis para explicar esta baja transformación, puede ser porque gran cantidad del ALA ingerido se oxida a acetil-CoA, el cual se recicla en la síntesis de novo de colesterol, de los AGS y monoinsaturados, o se metaboliza a dióxido de carbono (DeLany y col., 2000). Además, es el AGI que se oxida de forma más rápida (Nettleton., 1991).

La velocidad de acilación del ALA en los tejidos es baja, la concentración de ALA en los PL del plasma y los tejidos es inferior al 0.5% del total de los AG (Burdge y col., 2005). Este bajo contenido puede que no sea suficiente para competir con la LA por la 6-desaturasa. Para mejorar el contenido corporal en DHA se puede realizar mediante la ingesta a largo plazo de aceites

vegetales que contengan ALA y menos LA (Ezaki y col., 1999; Ghafoorunista y col., 2002). Esto puede ser importante entre otros para los vegetarianos puesto que no consumen pescado, sin embargo, el aumento de DHA puede no ser inmediato ni tan eficaz como el consumo directo de DHA en pescados o en suplemento de aceite de pescado (Burdge y col., 2005).

Estudios en animales han demostrado que para lograr la máxima incorporación de DHA a los tejidos se consigue con dietas con relaciones de AG que sean LA-ALA de 4:0 y de 2:1 (Woods y col., 1996; Bowen y col., 1999; Blank y col., 2002), sin embargo, en un estudio en alimentación humana se demostró que la cantidad absoluta de ALA influye en la transformación más que la relación LA/ALA (Goyens y col., 2006). Siendo más eficaz una reducción del LA en la alimentación junto con un aumento del ALA para aumentar la síntesis de EPA y DHA, siendo mejor en las mujeres jóvenes que en los hombres de similar edad (Burdge y col., 2002; Burdge y col., 2002).

Existen factores que afectan a la actividad de las desaturasas  $\lambda 5$  y  $\lambda 6$  que son necesarias para la transformación de LA y ALA en sus correspondientes LCPUFA, dichos factores son el colesterol de la dieta que disminuye la actividad de las mismas (Huang y col., 1985; Garg y col., 1986), las dietas ricas en grasa que también disminuyen su actividad (Garg y col., 1986), las personas con diabetes parece que presentan una actividad de la  $\lambda 5$  desaturasa más baja (Jones y col., 1986; Bassi y col., 1996). Otros factores como los niveles bajos de insulina, la falta de proteínas y ciertos minerales como el magnesio, cobre, hierro y zinc que suelen ir asociados su carencia con desnutrición disminuyen la actividad de la  $\lambda 6$ -desaturasa y por tanto disminuye la transformación de ALA y LA en LCPUFA. Influye también la función hepática y las enfermedades. El consumo de alcohol y de tabaco también disminuyen las concentraciones tisulares de LCPUFA (horrobin DF., 1987; Pawlosky y col., 2004) (Santos y col., 1984; Simon y col., 1996; Leng y col., 1994; Marangoni y col., 2004b; Agostini y col., 2008)

En los países occidentales donde el consumo de LA es elevado (Lands., 2008).

Teniendo valores que oscilan entre 8,3 y 19,0 g por día en hombres y entre los 6,8 y 13,2 g por día en mujeres (Lands., 2008) en Europa, Australia y Norteamérica, esto supone que es 10 veces mayor en comparación con el consumo de ALA.

Se justifica la reducción en el consumo de LA en los países occidentales para lograr una mayor transformación del ALA en EPA y DHA (Lands., 2008). Sin embargo, en el estudio conocido como *El Estudio de Salud de las Enfermeras* "(Nurses health Study) se demostró que las enfermeras con una ingesta significativa de LA presentaban menor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y la mortalidad que se asocia con las misma (Hu y col., 1997).

Es probable que sea más importante un déficit de los niveles fisiológicos de EPA y DHA que una mayor ingesta de ALA. Sin embargo para aquellos que no consumen LCPUFA tales como EPA o DHA, pueden ver afectada la competencia para obtener LCPUFA n-3 a partir de ALA.

Los PUFA n-3 que proceden de plantas pueden reducir el riesgo de cardiopatía coronaria, en particular cuando la ingesta de pescado y marisco es baja (Mozaffarian y col., 2005)

### **Formación de eicosanoides y docosanoides**

A partir de los LCPUFA C20 de las familias n-6 y n-3 se van a formar los eicosanoides como son las PG, PGI, TX, LT, ácidos hidroperoxitetraenoicos (HPETE), ácidos hidroxieicosatetraenoicos (HETE) y lipoxinas (lee y col., 2008). Para dicha transformación son necesarias dos enzimas microsómicas que son la ciclooxigenasa (COX) la cual transforma los AG C20 en prostanoïdes (PG, PGI, TX) y la LOX que los transformará primero en HPETE, para posteriormente transformarlos en LT, HETE y lipoxinas (Smith WL y col., 1991; Samuelson B., 1987). De estos AG los más importantes para la producción de eicosanoides son el DHGLA que dará lugar a prostanoïdes de la serie 1 y los LT de la serie 3, el AA que formará prostanoïdes de la serie 2 y los LT de la serie 4 y a partir del EPA se formarán los prostanoïdes de la serie 3 y los LT de la serie 5

Los eicosanoides que son biológicamente más activos son aquellos que derivan del AA y EPA, pero al competir por las mismas enzimas los niveles de los productos formados a partir de ellos van a depender de las concentraciones iniciales de AA y EPA en la membrana celular, normalmente en estas membranas existe una elevada proporción de AA y baja concentración de EPA y DHA, luego es el AA el dominante en la síntesis de los eicosanoides, cuando existe un alto consumo de EPA o DHA se puede inhibir la formación de los eicosanoides derivados del AA (Corey EJ y col., 1983; Culp BR., 1979)

A partir del EPA por la COX-2 se forman otros mediadores conocidos como resolvinas de la serie E (Serhan CN y col., 2000), y del DHA se han obtenido resolvinas de la serie D y protectinas (neuroprotectinas D1) que reciben la denominación general de docosanoides se forman mediante la acción de la COX-5 y 5-LOX (Serhan CN y col., 2002; Bazan NG., 2007; Lee JY y col., 2008).

### AGP $\omega$ -3 procedentes de aceite de pescado.

La obtención de AGP $\omega$ -3 procedentes de aceite de pescado se caracteriza por su rápida incorporación a las membranas de los cardiomiocitos y del músculo esquelético, siendo capaces de reducir la demanda de oxígeno durante el ejercicio sin que disminuya el rendimiento, su consumo incrementa la concentración de los mismos en la membrana y en el interior de los eritrocitos disminuyendo la frecuencia cardíaca durante el ejercicio tanto extenuante como submáximo sin que se altere el tiempo de declaración voluntaria de fatiga.

El consumo de DHA procedente de aceite de pescado reduce la mortalidad y morbilidad por ECV y se recomienda su consumo tras sufrir un IAM, también se disminuye el riesgo de mortalidad por cardiopatía, por muerte súbita, debido a que los AGP $\omega$ -3 estabilizan la membrana de los cardiomiocitos, inhiben la agregación plaquetaria al disminuir la activación plaquetaria y modificar el perfil lipídico sanguíneo disminuyendo la presión sistólica y diastólica por la alteración en los eicosanoides en favor de los que presentan acción vasodilatadora y también por la disminución de la respuesta inflamatoria del endotelio.

La reducción de la presión arterial debida al consumo de aceite de pescado es similar a la producida por el consumo de propranolol, reduce la formación de norepinefrina y tromboxano B2 e incrementa los niveles de la renina plasmática, disminuyendo, por tanto, el riesgo aterotrombótico en pacientes con hiperlipoproteinemia con beneficios evidentes sobre el riesgo de ECV, su consumo durante 37 meses disminuye en un 16% la mortalidad por cualquier causa y en un 24% la mortalidad por IAM, ello es debido a la incorporación de EPA y DHA a los fosfolípidos de los cardiomiocitos a expensas de AA así como a la disminución de TNF- $\alpha$ , sin embargo la reestenosis tras angioplastia coronaria no se reduce con la suplementación de AG

En el caso de mujeres con coronariopatías el consumo de pescado se ha asociado con una reducción en la progresión de la arterioesclerosis coronaria al disminuir los AGP $\omega$ -3 el nivel de los triglicéridos, de las moléculas de adhesión y de la IL-6. Sin embargo, el estudio de *women's Health Initiative* a 6 años en 44.720 mujeres postmenopáusicas no mostró relación alguna entre dicho consumo y la aparición de fibrilación auricular, como tampoco protegen frente a arritmia cardíaca. No obstante, si protegen frente a alteraciones en la función endotelial.

La American Heart Association (AHA) recomienda como saludable una dieta en la que el consumo de pescado sea de al menos 2 raciones por semana, en forma de pescado azul que aportaría 2g/100g de EPA y DHA y otra ración de pescado blanco el cual supondría 0,2g/100g de DHA y EPA, dicha cantidad aumentaría en el caso de que se tenga alguna enfermedad cardiovascular en cuyo caso la ingesta aumentaría a 1g de EPA y DHA proveniente de pescado o aceites de pescado, se ha comprobado además que cuando se ingieren suplementos de 2-4 g en aquellos que presenten triglicéridos elevados en sangre sería positivo para bajar dichos niveles.

La autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) propone sin embargo que los adultos de entre 15-65 años ingieran la cantidad de 250 mg/día de EPA y DHA, lo cual se podría conseguir con la ingesta de 1 a 2 raciones a la semana de pescado.

La OMS (organización mundial de la salud) también hace las recomendaciones de tomar un consumo regular de pescado a la semana de 1 ó 2 raciones, lo cual equivaldría a un consumo de EPA y DHA de 200-500 mg/ración en el caso de la población general, pues se ha demostrado el efecto beneficioso de estos AG ante coronariopatías y accidente cerebrovascular; en el caso de aquellas personas que por diferentes motivos no consuman pescado como el caso de los vegetarianos, se aconseja que tengan una ingesta adecuada de  $\alpha$ -linolénico (ALA), de origen vegetal, pues se metabolizará en parte a EPA (0.5-20%)

Otros efectos de estos AG son con respecto a la función antiinflamatoria, pues suprimen la activación de los linfocitos T, modulan la síntesis de eicosanoides, la actividad de los receptores nucleares, los factores de transcripción y la producción de resolvinas, lo que hace que se produzca una disminución del proceso inflamatorio. Este efecto antiinflamatorio se da también en individuos con sobrepeso y obesidad a la vez que reducen su peso corporal y su presión sistólica y diastólica, también se manifiesta con la protección frente a la broncoconstricción provocada por el ejercicio o frente a la inflamación del endotelio lo cual sirve de prevención frente a ECV. La suplementación de estos AG disminuyen la producción de leucotrienos (LT)  $E_2$ , PG  $F_29\alpha$  y PG  $F_2 11\beta$ ,  $LTB_4$ , TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  así como aquellos lípidos que actúan como mediadores de la resistencia a la insulina y a la inflamación.

Pescados ricos en AGPI $\omega$ -3 son entre otros el salmón, atún, pez espada, arenques, sardinas, caballa, bacalao, etc.

Una suplementación de 1,8g/día de EPA y DHA (Tur Marí JA y col., 2013) durante 26 semanas cambia la expresión de 1040 genes y disminuye la expresión de los genes que participan en los procesos inflamatorios y aterogénicos, así como la señalización del factor nuclear  $\kappa$  de linfocitos B (NF- $\kappa$ B), la síntesis de eicosanoides, la adipogénesis la señalización de la hipoxia y la actividad de receptores eliminadores de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL $_{ox}$ ).

Los AGPI $\omega$ -3 disminuyen la dismenorrea, el dolor de espalda y abdominal en mujeres jóvenes lo que permite reducir el consumo de AINE como ibuprofeno, la suplementación de aceites de pescado desde la semana 22 de gestación mejora el desarrollo neurológico del feto, aunque incrementa los marcadores de estrés oxidativo a partir de la semana 30 pero sin disminuir la respuesta antioxidante, esta suplementación durante el embarazo es seguro para el feto y beneficioso para la coordinación visual y manual del niño.

Se ha comprobado una cierta protección en mujeres tras el consumo de pescado en el desarrollo de alergias, en el caso de las madres con historial de alergia, cuando consumen pescado (3,7g/día de AGPI $\omega$ -3) desde la semana 20ª disminuye la producción de neutrófilos,  $LTB_4$ , la respuesta proinflamatoria de la IL-6 y las respuestas reguladoras de la IL-10 a través de las células mononucleares neonatales estimuladas por lipopolisacáridos, así como una tendencia a que los neonatos produzcan menos productos inflamatorios  $LTB_5$ , todo esto modifica el desarrollo inmunológico, disminuyendo el eccema asociado a IgE durante el primer año de vida en niños con antecedentes familiares de alergias.

La suplementación de pescado en las gestantes y lactantes hace que aumente la cantidad de DHA y ALA en la leche materna, una leche materna rica en DHA proporciona 315mg/día en niños de 1 a 6 meses y son dosis seguras y sin efectos adversos. El suplemento en la infancia favorece el desarrollo cerebral y del sistema nervioso central.

En personas mayores se ha visto una asociación entre el bajo consumo de pescado con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y neurológicas.



El consumo de pescado azul cuyo aporte suponga el 0,1% de la energía diaria favorece una menor incidencia de depresión y menos episodios recurrentes de depresión, sin afectar a los episodios aislados de la misma, esta asociación es mayor en hombres y mayor si son no fumadores, pues en fumadores pueden verse incrementados los episodios recurrentes tras dicho consumo

El consumo de este tipo de AG parece mejorar la escala de control/perfeccionismo de los mecanismos cognitivos, sin afectar a la cognición ni al estado de ánimo, en personas de más de 65 años se observa una reducción de la degeneración macular neovascular asociada con la edad con el consumo de pescado 1 vez a la semana, aunque no afecte a la sensación de bienestar mental.

En regímenes de pérdida de peso es efectivo la incorporación de estos AG porque mejoran el metabolismo de la insulina, glucemia, dislipemia al mismo tiempo que se reduce el riesgo cardiovascular y la sensación de hambre y modula la saciedad posprandial, las quemaduras por efecto del sol se reducen con el consumo de pescado porque disminuyen los niveles de PGE<sub>2</sub>

En pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y sometidos a tratamiento retroviral la ingesta de AGPI $\omega$ -3 de pescado disminuye los triglicéridos y presentan efectos antiinflamatorios por incremento de la formación de productos antiinflamatorios LTB<sub>5</sub>.

En el caso del cáncer de mama estos AG poseen acción inhibitoria in vitro, pero no se ha demostrado in vivo. Sobre el cáncer de pulmón de células pequeñas se ha visto que la suplementación de 2,0g/día de EPA y 0,9g/día de DHA tiene efectos inmunomoduladores que mejoren el estado nutricional de dichos pacientes, la combinación de de AGPI $\omega$ -3 de aceite de pescado e inhibidor de la ciclooxigenasa 2 disminuyen y mejoran los signos y síntomas que se asocian al síndrome inmunometabólico, se revierte la caquexia asociada al adenocarcinoma pancreático y hay ganancias de peso de 1 a 2 Kg entre 3 y 7 semanas de tratamiento. Un aumento de ALA aumenta el riesgo de cáncer de próstata, mientras que el aumento de EPA y DHA lo reduce.

La relación beneficio/riesgo relacionadas con el consumo de pescado, dependen de las especies, en el caso del salmón, trucha o arenque es mayor el beneficio, en otras como el pez espada o los tiburones el riesgo supera al beneficio debido a la alta cantidad de metilmercurio, en otras como platija, atún de lata o fletán hay beneficio con un pequeño riesgo, sin embargo los niveles de metilmercurio que se ha observado últimamente no son tan elevados en tanto que los niveles dioxinas han sido mayores, además los contaminantes afectan más a las proteínas del pescado que a sus ácidos grasos.

Los AGP  $\omega$ -3 procedentes del pescado son sobre todo EPA y DHA, los cuales manifiestan efectos protectores frente a la ECV, la salud cardíaca, el perfil lipídico sanguíneo, la DM tipo 2, la inflamación, sobre las enfermedades renales, la salud maternoinfantil, la función del SNC, sobre el envejecimiento, las alteraciones psiquiátricas, sobre algunos tipos de cánceres y sobre otras enfermedades, existen por el contrario otros estudios en los que un consumo alto de estos productos incrementa el riesgo de DM de tipo 2, además del riesgo potencial que deriva de los posibles contaminantes presentes en el pescado

### Derivados lácteos enriquecidos con AGP OMEGA-3

Los seres humanos somos los únicos mamíferos que consumimos leche y derivados lácteos en la edad adulta, sin embargo, nuestras necesidades no son las mismas después del nacimiento, en la infancia, adolescencia o en la edad adulta, ni tampoco durante el embarazo,

lactancia o menopausia. La composición del preparado lácteo por tanto debe variar junto con estas necesidades, de hecho las fórmulas infantiles que intentan asemejarse lo máximo posible a la leche materna, se clasifican en tipo 1 (0-6 meses), tipo 2 o de continuación (de 6 a 1 año) y tipo 3 o de crecimiento (entre 1-3 años)

En los últimos tiempos hemos asistido a un incremento en el consumo de alimentos funcionales debido entre otras causas a una población cada vez más sensibilizada de la importancia de la dieta para mantener la salud, además estos alimentos se consumen con regularidad y contribuyen a reducir los factores de riesgo de entre otras la ECV mejorando parámetros lipídicos como CT, LDL-colesterol, TG, Presión arterial...etc

La leche es una buena opción al ser un alimento de consumo diario y ser además una buena fuente de calcio. Además las leches enriquecidas sufren una preemulsificación que facilita la absorción de los AG (Garaiova I y col., 2007). La grasa de la leche, alrededor de un 70% son AGS especialmente mirístico y palmítico los cuales son proaterogénicos y pueden aumentar el CT y el LDL-colesterol y por tanto el riesgo de ECV, por ello se aconseja limitar el consumo de grasa láctea (AHA, 2006). La leche sirve como vehículo no sólo de AG sino también aporta otros nutrientes como vitaminas, minerales, proteínas y puede incorporar elementos bioactivos (fitosteroles, probióticos, antioxidantes, isoflavonas...etc)

En el caso de los lácteos enriquecidos se sustituye parte de estos AGS por ácido oleico y ello ha resultado ser beneficioso para la prevención de las coronariopatías (The World Health Organisation, 2003),

En el caso de los productos lácteos enriquecidos en AGPI  $\omega$ -3 se ha comprobado que disminuyen el riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV), una ingesta de aproximadamente 500 ml/día de leche semidesnatada durante 6 semanas que aportaría 400mg de EPA y DHA disminuye la concentración de los TG y aumentaría los niveles de HDL-colesterol. Los derivados lácteos semidesnatados y enriquecidos con EPA y DHA (60mg/100ml) disminuirían los niveles de colesterol total y del LDL-colesterol.

El consumo diario de 3g/día de un derivado lácteos suplementado con AGPI  $\omega$ -3 durante 15 semanas se ha comprobado que disminuye los niveles circulantes de TG y colesterol total (CT) e incrementa los niveles de HDL-colesterol y por tanto se produce una disminución en la relación LDL/HDL, se atenúa el índice de aumento y de rigidez de las arterias. Cuando se da este suplemento a niños de entre 3 y 9 años durante 7 meses 500ml/día con un lácteo enriquecido en AGPI de los cuales el 60% es aceite de oliva, 20% de aceite de cacahuete y 20% de aceite de girasol, y que tan sólo contiene una cuarta parte de la grasa saturada de la leche entera, disminuyó los niveles de CT y LDL-colesterol sin que se produjera modificación en la ingesta calórica, cuando se administran el EPA y DHA en forma de cápsulas no aparecen estos efectos lo cual determina la importancia del vehículo lácteo en las acciones de estos AGPI.

En aquellos individuos que presentan un cierto riesgo de ECV el consumo de 500ml/día de un derivado lácteo enriquecido durante 1 año incrementó los niveles de HDL-colesterol, disminuyendo a su vez los TG, CT y LDL-colesterol; en pacientes con enfermedad vascular periférica se observó una disminución de CT y de apolipoproteína C sobre todo en los casos en los que presentaban hipercolesterolemia, además de mejorar la distancia que podían recorrer sin sentir dolor, resultado similares se observan en pacientes que presentaban un historial de IAM.

Por tanto, el consumo de leche semidesnatada enriquecida con EPA y DHA (186mg/día) durante 3 meses produce una reducción en los niveles de CT, LDL-colesterol y TG, si aumentamos a 300mg/día de EPA y DHA durante al menos 6 meses se enriquece entre un 25% y 50% los niveles plasmáticos de estos AG.

En otro estudio se vio un incremento del 25-50% en los niveles plasmáticos de AGP (EPA+DHA) al introducir leche enriquecida con una media de 300mg de esos AG durante al menos 6 semanas. La adición a la leche de una cantidad media de 300mg de EPA+DHA originó un enriquecimiento del 25-50% en los niveles plasmáticos de estos AG después de un periodo mínimo de 6 semanas este resultado fue inesperado (Visioli F y col., 2000; Carrero JJ y col., 2004; Benito P y col., 2006).

Los derivados lácteos enriquecidos son un excelente vehículo para proporcionar AGP  $\omega$ -3. Estos alimentos mejoran el perfil lipídico sanguíneo, la rigidez arterial, la inflamación y los marcadores de estrés oxidativo, y disminuyen los riesgos de ECV. No presentan efectos adversos

Lácteos enriquecidos en ácido linoleico conjugado (CLA) produjeron modificaciones sobre los lípidos de la sangre. En un estudio aleatorizado utilizando leche enriquecida-cis 9, trans 11 (c-9, t-11) y trans 10, cis 12 (t-10, c-12), en individuos con sobrepeso moderado e hiperlipidémicos durante 8 semanas se observó que se alteraban las concentraciones de los lípidos en sangre incluido el CT, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triacilglicerol, el índice de la función hepática que incluía plasma alanina transaminasa, bilirrubina total, proteína C reactiva, factor de necrosis tumoral alfa, sin embargo, en el grupo control no se alteró el CT en plasma ni en general ningún otro índice (Venkatramanan S y col., 2010).

En varios estudios se ha comprobado la relación entre los AGS y los niveles de colesterol (Grundt SM y col., 1990). En ellos se comprueba que por cada 1% de aumento de calorías procedentes de AGS se produce un 2% de aumento LDL-colesterol. En cambio, una reducción en la ingesta del 1% de AGS origina una reducción del 2% del colesterol sérico (Kris-Etherton PM y col., 1997; Mensink RP y col., 1992). Son factores de riesgo de ECV el CT, el LDL-colesterol, los TG elevados en ayunas y una baja concentración de HDL-colesterol.

La mejoría en el perfil lipídico con el consumo de lácteos enriquecidos es más notoria cuando los individuos presentaban valores lipídicos elevados en sangre al inicio del estudio, variando el intervalo de reducción de los TG entre un 10-24%, tan sólo un estudio mostró reducciones de glucemia en ayunas y fue en pacientes que mostraron unos niveles de glucosa moderadamente elevados en sangre (presentaban síndrome metabólico)

Son destacables los estudios en los que se comprueba la relación de reducción de los lípidos sanguíneos con la reducción de riesgo de ECV (Keys A y col., 1980; Keys A y col., 1984) en uno de los primeros estudios llevados a cabo por Law y col ya se encontró una reducción del 10% en los niveles de colesterol en suero en una edad de alrededor de los 40 años producía una reducción del riesgo relativo de cardiopatía coronaria del 50% (Law MR y col., 1994; Law MR y col., 1999).

Es importante tener en cuenta que el consumo de estos lácteos enriquecidos junto con una dieta equilibrada y un estilo de vida saludable mejora considerablemente la reducción de ECV, se mejora el perfil lipídico.

Los lácteos enriquecidos en DHA se utilizan en niños y adolescentes debido a sus claros beneficios, la composición de la leche materna es claramente diferente de la leche de vaca que es la consumida tras aquella por esta población, sin embargo, la leche materna presenta la mitad de AGS y es rica en oleico y AGPI (Finley DA y col., 1985), teniendo en su composición cantidades significativas de DHA (de 5-10 mg/100ml) mientras que por el contrario la leche de vaca carece de DHA y el contenido de AGPI es bajo, es conocido el papel del DHA en el desarrollo del cerebro y retina de los niños (Heird WC y col., 2005). por ello, la mayoría de las fórmulas infantiles añaden DHA, hay publicaciones que sugieren un efecto beneficioso en el desarrollo cognitivo y el rendimiento intelectual tras consumir dicho AG (Richardson AJ y col., 2005; Osendarp SJ y col., 2007)

La leche es un medio transportador, a partir del cual se puede absorber la grasa de forma eficaz, porque la grasa de la leche se encuentra muy dispersa en forma de micelas que proporcionan una gran superficie de absorción. El diámetro medio de los glóbulos de grasa en la leche de vaca homogeneizada es de 1-3mm.

La cantidad consumida de lácteos en casi todos los estudios es de 500 mL (lo cual equivale a dos vasos medianos) con periodos de entre 6 semanas y 14 meses, que proporcionan una cantidad aproximada de 600 mg de calcio que seían para cubrir el 65% de la Ingesta dietética de referencia (IDR), los derivados lácteos son la principal fuente de calcio de la dieta, que representan el 66, el 72 y el 45% de la ingesta de calcio de la dieta en España, Estados Unidos y Reino Unido respectivamente (Varela G y col., 1995; Subar AF y col., 1998; Henderson L y col., 2003)

La dosis diaria de EPA+DHA más utilizada en los estudios fue de 300mg (intervalo entre 190-330mg) que se obtiene del consumo de 2 porciones de pescado por semana, una de las cuales es graso (EFSA, 2009). Estas cantidades están muy cerca de los 250mg por día recomendadas por la EFSA, pero son todavía el 30% inferiores a las cantidades recomendadas por otras agencias alimentarias nacionales, como es el caso de Reino Unido, Francia u Holanda (como se describió con anterioridad). En cuanto al ácido oleico, las cantidades diarias utilizadas para sustituir a los AGS de la grasa láctea fueron de 2 a 10g, sobre todo 5g, que representan sólo el 4,1% de la ingesta energética diaria (si se toman como referencia 2500Kcal/día).

**Tabla 7.** Resumen de los efectos producidos por las leches enriquecidas sobre marcadores del metabolismo lipoproteico.

Autor	Participantes (n)	Grasa empleada para sustituir la grasa láctea	Sobre Lípidos sanguíneos	Sobre Colesterol total	SobreLDLc	Sobre TG
Benito P y col., (2006)	Pacientes, síndrome metabólico, n=72	Ácido oleico, AGP, EPA+DHA	Valores lipídicos iniciales. Efecto reductor. Reducción (%) respecto a los valores iniciales	Límite Si -6,2	Límite Si -7,5	Límite Si -13,3
Carrero JJ y col., (2004)	Adultos sanos con hiperlipidemia moderada, n=30	Ácido oleico, EPA+DHA	Valores lipídicos iniciales. Efecto reductor Reducción (%) respecto a los valores iniciales	Altos Si -9	Altos Si -13	Altos Si -24
Baró L y col., (2003)	Adultos sanos, n=30	Ácido oleico, EPA+DHA	Valores lipídicos iniciales. Efecto reductor. Reducción (%) respecto a los valores iniciales	Normal Si -7 CT	Normal Si -20 LDL-C	Normal No 0 TG
Carrero JJ y col., (2007)	Pacientes con infarto de miocardio, n=40	Ácido oleico, EPA+DHA	Valores lipídicos iniciales. Efecto reductor. Reducción (%) respecto a los valores iniciales	Normal Si -11	Normal Si -13	Normal No 0
Carrero JJ y col., (2005)	Pacientes con enfermedad vascular periférica, n=60	Ácido oleico, EPA+DHA	Valores lipídicos iniciales. Efecto reductor. Reducción (%) respecto a los valores iniciales	Límite Si -6	Normal Si 0	Normal No 0
Fonollá J y col., (2009)	Adultos sanos, n=297	Ácido oleico, EPA+DHA	Valores lipídicos iniciales. Efecto reductor. Reducción (%) respecto a los valores iniciales	Límite Si -4	Límite Si -6	Normal Si -10
Visioli F y col., (2000)	Adultos sanos, n=8	AGPI, EPA+DHA	Valores lipídicos iniciales. Efecto reductor. Reducción (%) respecto a los valores iniciales	Normal No 0	Normal No 0	Normal Si -19
Estévez-González MD y col., (1998)	Niños sanos, n=88	Ácido oleico y AGP	Valores lipídicos iniciales. Efecto reductor. Reducción (%) respecto a los valores iniciales	Normal Si -7	Normal Si -10	Normal Si -13,2
Castro IA y col., (2007)	Adultos sanos, n=18	AGPI, EPA+DHA	Valores lipídicos iniciales. Efecto reductor. Reducción (%) respecto a los valores iniciales	Normal No 0	Normal No 0	Normal Si +51

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; CT, colesterol total; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; LDLc, Colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad; TG, triglicéridos

**Tabla 8.** Resumen de diferentes fuentes de ácidos grasos omega-3

Fuente de AGP $\omega$ -3	AGP $\omega$ -3 que proporciona	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Referencia
Algas	DHA y DPA	Disminución de triglicéridos y VLDL-colesterol. Aumento de HDL-colesterol, LDL-colesterol y de la activación del factor VII de coagulación	Sin efectos adversos	
Aceites de pescado	EPA y DHA	Protección de la salud cardíaca, ECV, perfil lipídico, diabetes mellitus de tipo 2, inflamación, salud materno-infantil, función del sistema nervioso central, envejecimiento, cáncer, enfermedades renales, psiquiátricas y otras	Se ha sugerido que incrementan el riesgo de diabetes mellitus de tipo 2. Riesgo derivado de los contaminantes ambientales presentes en el pescado	
Plantas	ALA, DHA y ARA	Mejoran la sensibilidad a la insulina y son un hipotensor y protector del metabolismo óseo	Se desconoce si la ingesta de ALA proporciona suficiente cantidad de EPA y DHA	
Derivados lácteos enriquecidos con AGP $\omega$	EPA y DHA	Mejoran el perfil lipídico sanguíneo, la rigidez arterial, la inflamación y los marcadores de estrés oxidativo; disminuyen el riesgo de ECV		
Alimentos de origen animal	EPA y DHA	Según la formulación de los piensos utilizados en las granjas y el tipo de grasas que ingieran los animales (sobre todo, de aceites de pescado y algas)	Disminución de las propiedades organolépticas y la vida media de conservación de la carne	
Krill	EPA y DHA	Incrementa el HDL-colesterol, EPA y DHA; disminuye el LDL-colesterol, los triglicéridos y la urea, y protege ante la lesión oxidativa, la dismenorrea y los síntomas premenstruales	Sin efectos adversos	
Aceite de foca	EPA, DHA y DPA	Disminuye los triglicéridos y la relación $\omega$ -6 y $\omega$ -3	Sin efectos adversos	

AGP  $\omega$ -3: Ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -3; ALA: ácido  $\alpha$ -linolénico; ARA: ácido araquidónico; DHA: ácido docosahexaenoico; DPA: ácido docosapentaenoico;

ECV: enfermedades cardiovasculares; EPA: ácido eicosapentaenoico; HDL: lipoproteínas de alta densidad; LDL: lipoproteínas de baja densidad; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad

## BIODISPONIBILIDAD DE ÁCIDOS EPA Y DHA

### Criterios para evaluar la ingesta de AGPI omega-3

Es importante para la valoración de los cambios que se producen en el nivel de AGPI  $\omega$ -3 conocer la fiabilidad de los biomarcadores y la capacidad de reproducción de las ingestas dietéticas a partir de diferentes cuestionarios.

En una publicación de Serra-Majem.L y col., 2012 se hizo una revisión de biomarcadores y métodos dietéticos que evaluaban la ingesta de estos AG, se incluyeron 19 estudios que utilizaban como método de referencia el tejido adiposo (Hunter DJ y col., 1992; Andersen LF y col., 1999; Godley PA y col., 1996; Knutsen SF y col., 2003; Baylin A y col., 2002) y algunos componentes sanguíneos. En cinco CFC se validaron frente a tejido adiposo y todos los estudios obtuvieron rango de entre 0,4-0,66 para  $\alpha$ -linolénico, EPA y DHA.

Un estudio (Knutsen SF y col., 2003) validó un registro de alimentos con pesada de alimentos (3\* 7 días) y se obtuvieron correlaciones significativas para DHA.

Cinco CFC diferentes se validaron frente a tejido adiposo. Todas estas correlaciones fueron significativas. Los coeficientes de correlación observados. En todos los estudios estuvieron en el rango de 0.4-0.66 para  $\alpha$ -linolénico, EPA y DHA.

Un estudio (Knutsen SF y col., 2003) validó un registro de alimentos con pesada de alimentos (3\* 7 días) y se obtuvieron correlaciones significativas para DHA. Otro estudio validó 8 diferentes registros de 24 horas de ingesta de ácido  $\alpha$ -linolénico, EPA y DHA también con grasa subcutánea y se encontraron altas correlaciones ajustadas por ácido  $\alpha$ -linolénico, pero menores correlaciones de EPA y DHA.

La correlación reportada por Marckmann P y col., (1995) mostraron el coeficiente de correlación más alto (0.66) entre el total de estudios incluidos.

Existen otros estudios en los que se analizaron la ingesta dietética de AGPI  $\omega$ -3 relacionada con la concentración en los componentes sanguíneos (Sullivan BL y col., 2006; Hodge AM y col., 2007; Ma J y col., 1995; Andersen LF y col., 1999; Godley PA y col., 1996; Sublette ME y col., 2011; Arsenault LN y col., 2009; McNaughton SA y col., 2007; Sun Q y col., 2007; Norrish AE y col., 1999; Hjartaker A y col., 1997), además un cuestionario de historia dietética (Sasaki S y col., 2000) y tres estudios con pesada de alimentos y registro de los mismos (McNaughton SA y col., 2007; Kobayashi M y col., 2001; Kuriki K y col., 2003), los cuales validaron los AG del suero, plasma y eritrocitos, en los cuales se hallaron correlaciones significativas que se encontraban en rangos de 0,40-0,6, dicho rango es coincidente con el encontrado para la grasa subcutánea (Andersen LF y col., 1999; Hjartaker A y col., 1997; Hodge AM y col., 2007). Las concentraciones en suero o plasma de DHA y EPA iban de 0,5 a 0,6 (Godley PA y col., 1996). Se presentaron correlaciones en las membranas de los eritrocitos con respecto a la ingesta de EPA y DHA que van de 0,19 hasta 0,36, este es el valor más bajo encontrado en DHA (Kobayashi M y col., 2001)

### INGESTAS ACTUALES Y RECOMENDACIONES DE INGESTA DE ÁCIDO OLEICO, EPA Y DHA.

Existen en la actualidad falta de datos fiables en muchos países, por tanto, las estimaciones son escasas. Se han descrito valores de ingesta diaria en Austria de 265 mg, en Francia 380mg, en Alemania 250mg, en Holanda 90mg, en EEUU entre 100-200 mg, siendo el valor más alto el de Japón con ingestas de hasta 2g/día

debido al elevado consumo de pescado en dicho país. (Kris-Etherton PM y col., 2000).

La OMS (organización mundial de la salud) recomienda el consumo de 1 a 2 raciones de pescado a la semana, que equivaldría a una ingesta de EPA+DHA de entre 200 y 500 mg, que sería adecuada para la protección de enfermedad coronaria y accidente cerebrovascular (The World Health Organisation, 2003), la OMS establece diferencias en el caso de mujeres embarazadas o lactantes donde las recomendaciones son de 300mg/día de EPA+DHA, de los cuales 200mg deben proceder de DHA<sup>14</sup> (Aterburn LM y col., 2006), en los adultos la recomendación es de 250mg de EPA+DHA. También habla dicho organismo de los vegetarianos los cuales no consumen pescado y establece la necesidad de que la ingesta de ácido  $\alpha$ -linolénico a partir de las fuentes vegetales correspondientes (aceites de semillas, como el lino o la colza) sea la adecuada pues dicho AG puede convertirse en EPA (del 0,5 al 20% dependiendo de varios factores) (Aterburn LM y col., 2006; Pawlosky RJ y col., 2001)

Otros organismos internacionales como la AHA (La American Heart association) hace recomendaciones a su vez de ingerir pescado en especial graso por lo menos 2 veces a la semana (AHA, 2006) y recomienda en los individuos con historia clínica de ECV tomen suplementos de pescado o aceite de pescado en forma de cápsulas, y los que presentan valores elevados de TG tomen entre 2 y 4 g/día lo que supondría una reducción del 20-40% en unas semanas (Kris-Etherton PM y col., 2003).

Otros organismos en este caso europeos son la *La foods Standards Agency* del Reino Unido que establece ingestas diarias de 3g/semana o 450mg por día (Baldwin N y col., 2004).

La autoridad francesa de seguridad alimentaria distingue entre hombres y mujeres, recomendando el consumo de 500mg/día para los hombres y de 400 mg/día para las mujeres (AFFSA, 2003). En el caso de Holanda la recomendación es de 450mg/día de EPA+DHA (Health Council of the Netherlands, 2006). La Unión Europea establece unos valores de ingestas recomendadas de 250mg/día (EFSA, 2009). Cuando sólo tenemos en cuenta individuos sanos, existe una correlación negativa con la ingesta de estos AG y el riesgo cardiovascular de forma dosis dependiente hasta 250mg/día lo que se consigue con el consumo de pescado de 1 a 2 veces por semana<sup>11</sup> (EFSA, 2009)

Dentro de los AGM el principal es el oleico, según el estudio de TRANSFAIR y encuestas nacionales recientes los adultos consumimos entre el 12-18% de la energía en forma de este AG (Hulshof KF y col., 1999), siendo las ingestas más elevadas en los países de Europa Meridional que llega a ser hasta el 29%, tal es el caso entre otros de España, Italia o Grecia, (Kris-Etherton PM, 1999) donde se consume del aceite de oliva, en otros países como ocurre en los septentrionales u occidentales su principal fuente de oleico proviene sin embargo de la carne y productos cárnicos.

Teniendo en cuenta todos los tipos de grasa, se recomienda que la ingesta total de la misma sea alrededor del 30% de la energía total, siendo la ingesta máxima para los AGS de 10% y de los AGPI estén entre valores mínimos y máximos entre 6-10% (The World Health Organisation, 2003; EFSA, 2005), la de oleico debe encontrarse en torno al 10-15% del total. Sin embargo, la población europea en general tiene un consumo de unos 35% de energía total



**Tabla 9.** Resumen de diferentes estudios de intervención con ácidos grasos omega-3 procedentes de **aceite de pescado**

Participantes	Diseño	Intervención y dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
Mujeres sanas premenopáusicas (21-49 años)	RCT (16 semanas)	485mg/día de EPA y de DHA de 2/rationes/ semana de aceite de pescado (n=11) o de 1-2 cápsulas/día (n=12)	EPA +DHA en hematíes aumentó más rápidamente en el grupo con aceite de pescado que en el grupo con cápsulas durante las primeras 4 semanas, pero después la velocidad no difirió entre los grupos	Ninguno	Harris y col., (2007)
69 individuos (36 hombres y 31 mujeres con una edad media de 53 años) con triglicéridos en ayunas $\geq 1,1$ mmol/L con un IMC $>25$ Kg/m <sup>2</sup>	RCT de intervención de diseño paralelo, a doble ciego y con placebo (12semanas)	2,4 y 6 g/día de aceite rico en DHA (26% de DHA y 6% de EPA)	Por cada 1g/día de aumento en la ingesta de DHA, se produjo una reducción del 23% en triglicéridos, un aumento del 4,4% en HDL-colesterol y del 7,1% en LDL-colesterol	Ninguno	Milte y col., (2008)
16 hombres entrenados (ciclistas)	RCT de diseño paralelo y a doble ciego (8 semanas)	8*1g cápsulas /día de aceite de oliva (control) o aceite de pescado	Disminución de la frecuencia cardíaca (incluyendo el pico de frecuencia cardíaca) durante el ejercicio hasta el agotamiento, el estado de equilibrio de la frecuencia cardíaca en el ejercicio submáximo, el consumo de oxígeno total y la presión arterial	Ninguno	Peoples y col., (2008)
213 hombres y mujeres de mediana edad con valores de colesterol total o de presión arterial elevados y no tratados	RCT factorial, a doble ciego y con placebo (5 semanas)	Pan, barras de cereales y galletas crujientes fortificadas con 2g de aceite de pescado (DHA)	Disminución de la morbi-mortalidad por ECV	Ninguno	Harrison y col., (2004)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; DHA, ácido docosahexaenoico; ECV, enfermedades cardiovasculares; EPA, ácido eicosapentaenoico; HDLc, colesterol en HDL; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad.

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
47 pacientes masculinos con hipertensión moderada	RCT de intervención a doble ciego y con placebo (40 semanas)	Cápsulas de aceite de pescado (9g/día equivalente a 1,8g/día de EPA y 1,1 g/día de DHA)	Disminución de la noepinefrina en plasma y formación de tromboxano B <sub>2</sub> e incremento de la actividad de la renina plasmática	Ninguno	Singer y col., (1990)
14 adultos varones	Estudio aleatorizado de intervención, diseño paralelo y a doble ciego (4 semanas)	500g/día de aceite de pescado	Correlación inversa entre la agregación plaquetaria y la concentración plasmática de AGP $\omega$ -3	Ninguno	Din y col., (2008)
26 pacientes masculinos hipercoles-terolémicos	Estudio controlado de intervención, a doble ciego y con placebo (6 semanas)	216 mg/día de EPA, 140 mg/día de DHA. 390 mg/día de ácido $\gamma$ -linolénico, 3480mg/día de ácido linoleico	Disminución de la formación de malondialdehído, colesterol total. A LDL-colesterol, triglicéridos y activación plaquetaria	Ninguno	Pirich y col., (1999)
84 pacientes con baja ingesta de pescado (autodeclaración) aceptados para cirugía cardíaca (derivación cardiopulmonar)	Estudio controlado de intervención, diseño paralelo, a doble ciego y con placebo (63 días)	Aceite de pescado (6g de EPA+DHA/día) a los 7,14 o 21 días antes de la cirugía	Los AGP $\omega$ -3 se incorporaron rápidamente en los fosfolípidos del miocardio a expensas deARA	Ninguno	Metcalf y col., (2007).
14 pacientes con insuficiencia cardíaca	Estudio controlado de intervención, a doble ciego y con placebo (18 semanas)	8g/día de AGP $\omega$ -3	Disminución de la producción de TNF- $\alpha$ en la insuficiencia cardíaca e incremento del peso corporal	Ninguno	Mehra y col., (2006)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad; TNF, factor de necrosis tumoral

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
107 pacientes con angioplastia-coronaria percutanea transluminal	RCT de intervención a doble ciego y con placebo (6 meses)	10 cápsulas de aceite de pescado (3g/día; contiene 1,8 g de EPA y 1,2g de DHA; n=58) además de aspirina y bloqueadores de calcio, a partir de 4,3 días (en el grupo control solo aspirina y bloqueadores del calcio, n=49) antes de la angioplastia coronaria	El suplemento con aceite de pescado no redujo la reestenosis tras angioplastia coronaria	Ninguno	Kaul y col.,( 1992)
229 mujeres posmenopáusicas con arteriopatía coronaria	Estudio prospectivo de cohorte	Ingesta de pescado y AGPI $\omega$ -3 por CFCA	El consumo de $\geq 2$ raciones de pescado o $\geq 1$ ración de atún o pescado azul por semana se asoció con mínimos aumentos en el porcentaje de estenosis	Ninguno	Erkkila y col., (2004).
60 pacientes con coronariopatía	Estudio de intervención y a doble ciego (6 semanas)	100g/kg de salmón atlántico	Reducción de triglicéridos séricos y de sVCAM-1 e IL-6	Ninguno	Seierstad y col., (2005).
4680 hombres y mujeres (40-59 años) representativos de 17 poblaciones de China, Japón, Reino Unido y Estados Unidos	Estudio epidemiológico Transversal	Relación entre la ingesta de AGP $\omega$ -3 y presión arterial (4 recordatorios de 24 horas)	Relación inversa entre ingesta de AGPI $\omega$ -3 y presión arterial	Ninguno	Ueshima y col., (2007.)
44720 participantes	Estudio prospectivo de seguimiento (6 años) del <i>Women's Health initiative</i>	Relación entre ingesta de pescado o AGP $\omega$ -3 y fibrilación auricular por CFCA	No se demostró evidencia de relación entre ingesta de pescado o AGP $\omega$ -3 y fibrilación auricular	Ninguno	Berry y col., (2010.)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; CFCA, columna capilar; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; IL, interleuquina; VCAM, molécula de adhesión vascular

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
1148 individuos	Metaanálisis de RCT de intervención, de diseño paralelo, a doble ciego y con placebo	2g/día (4 cápsulas) de aceite de pescado (961 mg de AGPI $\omega$ -3: 464mg de EPA, 335 mg de DHA y 162 mg de AGP $\omega$ -3, 12 meses, 1,8g/día de aceite de pescado (42% de EPA y 30% de DHA) o placebo (aceite de oliva: 73% de Ácido oleico, 12% de ácido palmítico y 0% de EPA/DHA), 2años	No se demostró un efecto protector de AGP $\omega$ -3 de aceite de pescado sobre la arritmia cardíaca	Ninguno	Brouwer y col., (2006).
20 individuos sanos (10mujeres)	Estudio cruzado aleatorizado, a doble ciego y con placebo	Los participantes se presentaron en el laboratorio en 2 días separados y recibieron uno de estos tratamientos: comida rica en grasas (1g de EPA y DHA a partir de suplementos de aceite de pescado) o comida rica en grasas con placebo (cápsulas de lactosa). Cada visita estuvo separada al menos por 72 horas, pero no más de 14 días	La dilatación de la arteria braquial se mantuvo sin cambios y el flujo sanguíneo del antebrazo en reposo e hiperemia total se elevaron tras la suplementación.	Ninguno	Fahs y col., (2010.)
102 pacientes con accidente cerebrovascular confirmado	BCT (12 semanas)	3g/día de cápsulas de aceite de pescado (1.2g de AGP $\omega$ -3: 0.7g de DHA y 0.3 g de EPA)	No se encontraron cambios en los marcadores de ECV o de ánimo en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico	Ninguno	Popitt y col., (2009)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; DHA, ácido docosahexaenoico; ECV, enfermedades cardiovasculares; EPA, ácido eicosapentaenoico.

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
11 pacientes con epilepsia	RCT de doble cruzamiento y a doble ciego	4 semanas base; 12 semanas de tratamiento: 8 cápsulas/día; 9600mg de aceite de pescado/día (2880mg/día de AGP $\omega$ -3; 1728mg/día de EPA+1152mg/día de DHA) o aceite de soja (placebo); 4 semanas de lavado, y 12 semanas de tratamiento cruzado	Disminución de la gravedad de la crisis y los triglicéridos y aumento de HDL-colesterol	Ninguno	DeGiorgio y col., (2008).
17 individuos sanos de mediana edad (35-64 años)	Estudio cruzado aleatorizado, a doble ciego y con placebo	4 semanas de intervención (cápsulas de aceite de pescado con cada comida, 1260 mg de EPA y 540 mg de DHA) o con placebo y 4 semanas de lavado	No se encontraron cambios en la composición de ácidos grasos del plasma y de los fosfolípidos eritrocitarios	Ninguno	Watanabe y col., (2009)
16 individuos normolipidé-micos (9 mujeres)	RCT (8semanas)	6g/día (6cápsulas) de aceite de pescado (3g de AGP $\omega$ -3)	Aumento de la concentración plasmática de glutatión total, la homocisteína y el NO	Ninguno	Piolot y col., (2003)
12 diabéticos normotrigli-ceridémicos sin tratamiento con insulina	RCT con diseño paralelo y con placebo (9semanas)	5,9g/día de AGPI $\omega$ -3 (1,8 g de 20:5 $\omega$ -3 y 3,0 g de 22:6 $\omega$ -3)	Disminución de VLDL y aumento de tamaño de las partículas de HDL, de la concentración de LDL y ningún efecto sobre las LDL <sub>ox</sub>	Ninguno	(Mostad y col., 2008)
200 adultos indios moderamen-te hipercoles-terolémicos (35-55años)	Estudio controlado 2*2 factorial y a doble ciego (4 semanas)	Una vez al día ingesta de yogurt líquido (2g/día de fitoesteroles) y cápsulas (2g/día de AGP $\omega$ -3 de aceite de pescado)	Reducción de la concentración de LDL-colesterol y triglicéridos y aumento de HDL-colesterol	Ninguno	(Khandelwal y col., 2009.)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; HDLc, colesterol en HDL; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad.

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
25.639 hombres y mujeres (40-79 años)	Estudio Prospectivo de seguimiento (10años) del estudio EPIC_Norfolk	Registro de la ingesta de pescado mediante CFCA	Una elevada ingesta de pescado ( $\geq 1$ frente a $>1$ raciones/semana) se asoció con menor riesgo de diabetes mellitus de tipo 2	Ninguno	(Patel y col., 2009)
175 hombres y mujeres (64-87 años)	Estudio prospectivo de seguimiento (4 años)	Registro de la ingesta de pescado por registro dietético	En la población anciana, el consumo de una pequeña cantidad de pescado protege frente a la intolerancia hidrocarbonada y la diabetes mellitus de tipo 2	Ninguno	(Feskens y col., 1991)
3 estudios de cohortes: Nhs (1976; 121.700 en-fermeras entre 30 y 55 años al inicio); NHS2 (1989; 116.609 enfermeras entre 26 y 46 años al inicio) y HPFS (1986; 51.529 profesiona-les sanitarios masculinos entre 39 y 78 años al inicio)	Estudios prospectivos de seguimiento y de cohortes	Registro dietético mediante CFCA aplicado con intervalos de 4 años durante el seguimiento	No hay evidencia de que el consumo elevado de AGP $\omega$ -3 o pescado reduzca el riesgo de diabetes mellitus de tipo 2	Ninguno	(Kaushik y col., 2009).
8 hombres diabéticos	RCT (8 semanas)	8g/día de AGP $\omega$ -3 en forma de cápsulas de concentrado lipídico de origen marino	Los niveles plasmáticos de triglicéridos y colesterol disminuyeron, no se alteró el HDL-colesterol, pero aumentaron los niveles de glucosa en ayunas	Las cápsulas de concentra-dos lipídicos de origen marino aportan cantidades de AGP $\omega$ -3 y deben utilizarse con precaución en pacientes con diabetes mellitus tipo2	(Friday y col., 1989)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; CFCA, columna capilar; HDLc, colesterol en HDL.

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
12 hombres diabéticos	Estudio cruzado aleatorizado y a doble ciego	6g/día de aceite de pescado o de aceite de girasol. Administrado a intervalos y separados por un intervalo de lavado de 2 meses	Dosis moderadas de aceite de pescado no produjeron efectos deletéreos sobre el control de la glucosa o sobre la sensibilidad del organismo a la insulina en hombres diabéticos, pues se mantuvieron bajos los niveles de triglicéridos	Ninguno	(Luo y col., 1998).
10 personas diabéticas (42-65años)	Estudio cruzado aleatorizado y a doble ciego	Sin suplementación (al inicio); 10g/día concentrado de aceite de pescado (30% de AGP $\omega$ -3); 10g/día de aceite de cártamo; separados por periodos de 3 semanas	La suplementación con aceite de pescado afectó, de forma no deseada, el control de la glucosa en personas diabéticas, sin efectos beneficiosos sobre el perfil lipídico plasmático	Ninguno	(Borkman y col., 1989)
36328 mujeres (media de edad: 54,6 años)	Estudio prospectivo de seguimiento (12,4años) del <i>Women's Health Study</i> (1992-2008)	Registro de la ingesta de pescado por CFCA y diabetes mellitus de tipo 2 autodeclarada	SD	El riesgo de diabetes mellitus de tipo 2 aumenta con la ingesta de AGP $\omega$ -3 en especial tras grandes ingestas ( $\geq 0,20$ g/día de AGP $\omega$ -3 o $\geq 2$ raciones/día de pescado)	(Djoussé y col., 2011)
2397 participantes	Estudio prospectivo de seguimiento aleatorizado, transversal, longitudinal (1año) y multicéntrico ( <i>Look AHEAD Study</i> )	Registro de la ingesta de pescado mediante CFCA	La ingesta de AGP $\omega$ -3 de origen marino se asoció inversamente con los niveles de triglicéridos y débilmente con los niveles de HDL-colesterol	Ninguno	(Belalcazar y col., 2010)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; CFCA, columna capilar; HDLc, colesterol en HDL.

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
162 individuos sanos	RCT y con placebo (3 meses)	3,6 g/día de AGP $\omega$ -3 de aceite de pescado	La suplementación moderada con aceite de pescado no afectó la secreción ni la sensibilidad de la insulina, la función pancreática $\beta$ , ni la tolerancia a la glucosa	Ninguno	(Giacco y col., 2007)
12 personas diabéticas normotriglicéridémicas	RCT, de diseño paralelo, dos vías y con placebo	5,9 g/día de aceite de pescado (1,8 g de 20:5 $\omega$ -3 y 3,0 g de 22:6 $\omega$ -3)	Aumento del tamaño de las partículas de HDL y ligeramente de la concentración de LDL. No tuvo efecto sobre las LDL <sub>ox</sub> y disminuyó la sensibilidad a la insulina	Ninguno	(Mostad y col., 2009)
25 mujeres jóvenes (18-30 años) con deficiencias de hierro	Estudio de intervención aleatorizado cruzado (9 semanas)	Dieta que contiene 2 raciones de salmón, 2 latas de atún (56 g cada una), 1 lata de sardinas en aceite de oliva, 1 ración de pescado blanco, 1 ración de carne roja, 2 raciones de pollo y 2 huevos por semana	Los niveles de insulina disminuyeron y la sensibilidad a la insulina y los niveles de HDL-colesterol aumentaron	Ninguno	(Navas-Carretero y col., 2009).
42 individuos sanos	RCT y con placebo (4 semanas)	Aceite de pescado rico en EPA (4,7g/día) o DHA (4,9g/día)	La suplementación con DHA, pero no con EPA, suprimió la activación de los linfocitos T; EPA no modificó la expresión de CD 69	Ninguno	(Kew y col., 2004.)
324 individuos (20-40 años) con IMC=27,5-32,5 Kg/m <sup>2</sup>	RCT (8 semanas)	Salmón (3*150g/semana, 2,1g/día de AGP $\omega$ -3); bacalao (3*150g/semana, 0,3g/día de AGP $\omega$ -3) cápsulas de aceite de pescado (1,3g/día de AGP $\omega$ -3); control (cápsulas de aceite de girasol, sin pescado)	Los individuos que consumieron pescado experimentaron pérdida de peso y disminución de los niveles de triglicéridos, de parámetros inflamatorios y de la presión arterial sistólica y diastólica. El consumo de salmón fue el mas efectivo	Ninguno	(Ramel y col., 2009)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; HDLc, colesterol en HDL; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad.



**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
92 hombres (35-70 años)	Estudio de intervención basado en la alimentación, aleatorizado y paralelo (8 semanas)	Almuerzo con cerdo/pollo/ternera (n=30), pescado blanco (n=30) no pescado azul (n=32)	Reducción en los niveles de triglicéridos e IL-6 y aumento de los de HDL-colesterol	Ninguno	(Zhang y col., 2010)
10 atletas de élite con broncocons-tricción provocada por el ejercicio y 10 sin ella	RCT cruzado y a doble ciego (3 semanas)	Cápsulas de aceite de pescado (3,2 g/día de EPA y 2,2 g/día de DHA) o placebo (cápsulas de aceite de oliva)	Sin efecto sobre la función pulmonar y previa al ejercicio, pero mejoró la función pulmonar posterior al ejercicio y disminuyeron leucotrienos, PGF <sub>2</sub> 11 $\beta$ , TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$	Ninguno	(Mickleborough y col., 2003).
36 pacientes con enfermedad renal terminal	RCT, permutado, a doble ciego y con placebo (6 meses)	2 píldoras de envoltorio blando/día (1g cada una) de suplementación de aceite de pescado (960mg/día de EPA y 600mg/día de DHA)	Disminución de los niveles de PCR	Ninguno	(Bowden y col., 2009).
33 pacientes con IAM e isquemia inestable	RCT basado en la alimentación y paralelo (8 semanas)	Almuerzos con pescado azul (n=11), pescado blanco (n=12) o control (filetes de ternera, cerdo y pollo; n=10), 4 almuerzos/semana	Disminución de lípidos que son potenciales mediadores de la inflamación y la resistencia a la insulina originada por lípidos	Ninguno	(Lankinen y col., 2009)
727 mujeres (43-69 años)	Estudio de seguimiento transversal de una cohorte del <i>Nurses Health Study I</i>	Registro de la ingesta de pescado y de AGPI $\omega$ -3 mediante CFCA	La ingesta de AGPI $\omega$ -3 se relacionó inversamente con los niveles de sICAM-1 sVCAM-1, PCR E_selectina	Ninguno	(López- García y col., 2004)
60 pacientes con pancreatitis grave aguda	RCT (2 semanas)	Suplementación intravenosa con emulsión de AGP $\omega$ -3 de aceite de pescado (0,2g/Kg/día)	La suplementación parenteral con emulsión de AGP $\omega$ -3 de aceite de pescado disminuyó la magnitud y la persistencia del síndrome de respuesta sistémica inflamatoria	Ninguno	(Xiong y col., 2009)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; CFCA, columna capilar; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; ICAM, molécula de adhesión intercelular; PCR, proteína c reactiva; VCAM, molécula de adhesión vascular

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
64 pacientes con artritis reumatoide moderada estable	RCT, a doble ciego y con placebo (12 meses)	10 cápsulas /día (171 mg de EPA/cápsula y 114 mg de DHA/cápsula)	Reducción de la dosis de AINE a partir del tercer mes	Ninguno	(Lau y col., 1993)
250 pacientes con dolor cervical o de espalda quirúrgico	RCT (4 meses)	EPA+DHA de aceite de pescado (1200 mg/día)	La suplementación con AGP $\omega$ -3 mostró un efecto equivalente al ibuprofeno en la reducción del dolor artrítico	Ninguno	(Maroon y col., 2006.)
97 pacientes con artritis reumatoide	Estudio controlado, prospectivo, dual, a doble ciego y con placebo (9 meses)	10 g/día (10 cápsulas) de aceite de hígado de bacalao (150 mg de EPA y 70 mg de DHA)	La suplementación de hígado de bacalao contiene AGP $\omega$ -3 y disminuye la dosis de AINE	Ninguno	(Galarraga y col., 2008).
19 pacientes con artritis reumatoide	Estudio controlado aleatorizado (2 años)	Intervención: 1) 2,7g/día de EPA y 1,8 g/día de DHA de aceite de pescado	EPA incrementó la actividad inhibitoria del paracetamol sobre la ciclooxigenasa en pacientes con artritis reumatoide	Ninguno	(Caughey y col., 2010).
12 pacientes asmáticos	Estudio controlado, a doble ciego y con placebo (1 año)	1 g/día de EPA+DHA	Se observó un efecto positivo sobre el volumen espiratorio forzado en 1 segundo a partir del noveno mes de tratamiento	Ninguno	(Dry y col., 1991).
216 pacientes adultos, (54+_12años; 47% de mujeres)	Estudio controlado de intervención, multicéntrico, paralelo, aleatorizado (6 meses)	Dos raciones de 150 g/semana (salmón o bacalao)	Las concentraciones séricas de PCR disminuyeron tras el consumo de salmón o bacalao, pero el análisis de los marcadores de inflamación en colon o heces no mostró este efecto	Ninguno	(Pot GK y col., 2009.)
15 hombres sanos (26+_3 años) con IMC de 23,8+_1,9 Kg/m <sup>2</sup>	RCT y con placebo (3-4 semanas)	7,2 g/día de aceite de pescado (aporta 1,1 g/día de 20:5 de AGP $\omega$ -3 y 0,7 g/día de 22:6 de AGP $\omega$ -3)	El aceite de pescado tiene efectos beneficiosos sobre la septicemia aunque no inflamatorios	Ninguno	(Michaeli y col., 2007.)
233 individuos sanos (31+_5años; IMC: 28,3+_1,5Kg/m <sup>2</sup> )	RCT (8 semanas)	1) <260 mg/día de AGP $\omega$ -3 (n=112); 2) >1300 mg/día de AGP $\omega$ -3 (n=121)	La suplementación con AGP $\omega$ -3 modula la saciedad posprandial en voluntarios con sobrepeso u obesidad durante la pérdida de peso	Ninguno	(Parra y col., 2008)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; AINE, antiinflamatorios no esteroideos; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico.

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
26 hombres y mujeres con sobrepeso o moderadamente obesos (IMC: 28-33 Kg/m <sup>2</sup> )	RCT	2 semanas de dieta de control (0% de aceite de pescado y 0,5% de ALA) más 2 semanas de dieta con AGP $\omega$ -3 (1,4% de energía, como EPA, DPA y DHA de aceite de pescado, y 2,2% de ALA de aceite vegetal)	Los AGP $\omega$ -3 de la dieta no desempeñan ningún papel importante en la regulación de la ingesta, gasto energético ni peso corporal en los seres humanos	Ninguno	(Kratz M y col., 2009.)
388 adultos (hombres y mujeres)	Estudio de seguimiento alemán del <i>European Community Respiratory Health Study II</i>	Registro de la ingesta de pescado y AGP $\omega$ -3 mediante CFCA	Las mujeres con elevada ingesta de pescado y DHA presentaron menor tasa de sensibilización alérgica	Ninguno	(Schnappinger M y col., 2009)
13 pacientes (11 mujeres y 2 hombres, entre 21 y 81 años) con erupción polimórfica moderada	RCT (3 meses)	5 cápsulas 2 veces al día (1 g de aceite de pescado, 18% de EPA y 12% de DHA)	La ingesta de aceite de pescado redujo la inflamación provocada por UV	Ninguno	(Rhodes LE y col., 1995).
51 pacientes infectados por VIH y tratados con terapia retroviral	RCT aleatorizado a doble ciego y con placebo (12 semanas)	2 cápsulas de ésteres de AGP $\omega$ -3, 2 veces al día (n=26) o 2 cápsulas de placebo (n=25)	Los AGP $\omega$ -3 de aceite de pescado redujeron ligeramente los triglicéridos plasmáticos y provocaron efectos antiinflamatorios por incremento de la formación de LTB antiinflamatorios	Ninguno	(Thusgaard M y col., 2009).
310.671 mujeres (25-70 años)	Estudio de seguimiento (6,4 años) del <i>European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition</i> (1992-1998)	Registro del cáncer de mama y la ingesta de pescado y AGP $\omega$ -3 mediante CFCA	No se encontró asociación entre ingesta de pescado o AGP $\omega$ -3 y cáncer de mama	Ninguno	(Engese D y col., 2006).

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; ALA, ácido  $\alpha$ -inolénico; CFCA, columna capilar; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; IMC, índice de masa; LTB, Leucotrienos; UV, ultravioleta.

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
40 pacientes del estadio III de cáncer de pulmón de células no pequeñas	RCT a doble ciego y con placebo (4 semanas)	2 latas/día de suplemento nutricional oral proteico muy energético (2,0g de EPA+ 0,9g de DHA/día) o suplemento isocalórico de control	El suplemento de AGPI $\omega$ -3 de aceite de pescado tiene efecto inmunomodulador y mejora el estado nutricional de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas	Ninguno	(Van der Meij BS y col., 2010)
12 pacientes con cáncer de pulmón avanzado	RCT a doble ciego y con placebo (6 semanas)	2g/día de cápsulas (aceite de pescado, aceite de pescado+placebo o aceite de pescado +celecoxib)	Los pacientes que tomaron aceite de pescado+placebo o aceite de pescado+celecoxib mostraron mayor apetito, menor fatiga y menor PCR, mejoraron su peso corporal y su fuerza muscular	Ninguno	(Cerchietti y col., 2007.)
20 pacientes con cáncer de páncreas	RCT a doble ciego y con placebo (3 semanas)	2 latas (cada una: 310 Kcal,16,1g de proteína y 1,09 g de EPA) de suplemento de aceite de pescado enriquecido por día, además de su dieta habitual.	Mejora del estado físico, ganancia de peso y apetito tras 3 semanas de tratamiento	Ninguno	(Barber MD y col., 1999).
47.866 hombres de Estados Unidos 40-75 años sin antecedentes de cáncer en 1986	Estudio de seguimiento (14 años) del <i>Health Professionals Follow-Up Study (1986-2000)</i>	Registro de ingesta de pescado y AGP $\omega$ -3 en 1986, 1990 y 1994 mediante un CFCA de 131 items	El aumento de la ingesta de ALA puede incrementar el riesgo de cáncer de próstata avanzado. La ingesta de EPA y DHA puede reducir el riesgo de este cáncer	Ninguno	(Leitzmann MF y col., 2004).
16 especies de pescado más consumidas	Contenido de MeHg y AGPI $\omega$ -3 en distintas especies de pescado	Relación entre dosis y respuesta del contenido en MeHg y AGP $\omega$ -3, y sus efectos sobre ECV y neurodesarrollo	Los AGPI $\omega$ -3 contenidos en determinadas especies de pescado (por ejemplo, salmón, arenque y trucha) superan ampliamente el riesgo de ECV y enfermedades del neurodesarrollo derivado del contenido en MeHg. Otras especies presentan un equilibrio beneficioso menor (p. ej, platija y atún en lata)	En algunas especies, el contenido en MeHg supera los beneficios de los AGP $\omega$ -3 sobre el riesgo de ECV y enfermedades del neurodesarrollo (p. ej, pez espada o tiburón)	(Ginsberg GL y col., 2009).

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; CFCA, columna capilar; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; ECV, Enfermedades cardiovasculares; PCR, proteína c reactiva.

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGPω-3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
88 hombres y mujeres premeno-paúsicas sanos y no fumadores (33 años)	RCT, en paralelo y a doble ciego (12 semanas)	Aceite de girasol (placebo), aceite de colza (1 g/día de ALA), aceite de cáñamo (0,3 g/día de ALA) o aceite de pescado (0,6 g/día de EPA+DHA)	Los niveles plasmáticos de ALA aumentaron tras 6 semanas; sin diferencias en colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicéridos, LDL <sub>ox</sub> agregación plaquetaria o marcadores de inflamación (PCR y TNF-α)	Ninguno	(Kaul N y col., 2008).
79 hombres y mujeres premeno-paúsicas sanos y no fumadores (19-45 años)	RCT en paralelo y a doble ciego (6 semanas)	ALA (3,4 g/día), EPA (2,2 g/día) o DHA (2,3 g/día) vía margarinas enriquecidas	Aumento de los niveles de LDL-ALA; disminución de los niveles de triglicéridos en ayunas; sin diferencias en colesterol total, LDL-colesterol o HDL-colesterol	Ninguno	(Egert S y col., 2009).
62 hombres (> 40 años)	RCT en paralelo (12 semanas)	Diferentes dosis de aceite de lino, aceite de pescado y aceite de girasol en cápsulas; dosis de ALA: 1,2 g/día, 2,4 g/día y 3,6 g/día	2,4 y 3,6 g/día de ALA aumentaron los niveles intraeritrocitarios de ALA y EPA; sin diferencias en los marcadores de la inflamación (PCR, TNF-α y sVCAM-1), colesterol total, triglicéridos o HDL-colesterol	Ninguno	(Barceló-Coblijn G y col., 2008.)
59 hombres presidiarios sanos	Estudio a simple ciego (12 semanas)	Dieta habitual suplementada con 3,2 g/día de ALA	Sin efecto sobre la circunferencia de cintura, peso corporal, IMC y presión arterial sistólica, disminución de presión arterial diastólica y aumento de HDL-colesterol en no fumadores	Ninguno	(Sioen I y col., 2009).
62 hombres y mujeres posmenopáusicas (44-75 años) con hipercolesterolemia	RCT en paralelo y a simple ciego (10 semanas)	Dieta baja en grasa suplementada con aceite de lino o salvado de trigo (control); dosis de ALA (3,4 g/día)	Aumento de los niveles séricos de ALA; disminución de LDL-colesterol tras 5 semanas, pero no tras 10; disminución de la lipoproteína A y mejora de la sensibilidad a la insulina (HOMA-IR); sin efecto sobre marcadores de la inflamación (IL-6 y HsPCR) o estrés oxidativo (LDL <sub>ox</sub> e isoprostano urinario); disminución de HDL-colesterol	Ninguno	(Bloedon LT y col., 2008)

ALA, ácido α-inolénico; HDLc, colesterol en HDL; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad; PCR, proteína c reactiva; VCAM, molécula de adhesión vascular TNF, factor de necrosis tumoral

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGPω-3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
199 mujeres menopáusicas (49-65 años)	Estudio controlado paralelo y a simple ciego (52 semanas)	40 g/día de aceite de lino o germen de trigo; ALA 8,8 g/día	Aumento de los niveles séricos de ALA; mínimo efecto sobre apolipoproteínas A-1 y B; sin efecto sobre características electroforéticas de LDL o sobre marcadores de hemostasia e inflamación	Ninguno	(Dodin S y col., 2008)
1891 casos con un primer IAM no letal y 1891 controles; apareados por edad, sexo y lugar de residencia	Estudio de casos y controles	Registro de la ingesta de ALA mediante CFCA	Relación inversa entre IAM e ingesta de ALA	Ninguno	(Campos H y col., 2008)
3575 hombres y mujeres blancos (45-64 años)	Estudio de seguimiento (14,3 años) por cohortes del Atherosclerosis Risk in Communities Study	Relación entre los niveles séricos de ALA y los sucesos de insuficiencia cardíaca	Los niveles de ALA no se relacionaron con los episodios de insuficiencia cardíaca	Ninguno	(Yamagishi K y col., 2008)
2009 hombres (50 años)	Estudio de seguimiento (30,7 años) por cohortes del <i>Uppsala Longitudinal Study of Adult Men</i>	Relación entre los niveles de ALA en los ésteres de colesterol séricos y la mortalidad por ECV	Tras ajuste multivariable, la relación entre el riesgo de mortalidad por ECV y los niveles de ALA fue 1,1 (1,00-1,21) con 1SD	Ninguno	(Warensjö E y col., 2008)
40 casos de accidente cerebrovascu-lar isquémico, 40 casos de accidente cerebrovascu-lar hemorrágico y 40 controles sanos; apareados por edad y sexo	Estudio de casos y controles	Relación entre los niveles de ALA en eritrocitos y el riesgo de accidente cerebrovascular isquémico y hemorrágico	Los niveles de ALA eritrocitarios en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico y hemorrágico no se distinguieron de los controles; se encontró una relación inversa entre los niveles de ALA y el accidente cerebrovascular isquémico	Ninguno	(Park Y y col., 2009)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; ALA, ácido α-inolénico; CFCA, columna capilar; ECV, Enfermedades cardiovasculares; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad; IAM, infarto agudo de miocardio.

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
2174 hombres (42-60 años)	Estudio de seguimiento (17,7 años) por cohortes del <i>Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study</i>	Relación entre los niveles séricos de ALA y fibrilación auricular	Tras ajuste multivariable, la relación entre el riesgo de mortalidad por ECV y los niveles de ALA sérico (comparado con Q1) fue Q2: 1,26 (IC 95%:0,84-1,89), Q3: 0,74 (0,46-1,20) y Q4: 1,14 (0,7-1,79)	Ninguno	(Virtanen JK y col., 2009)
265 pacientes con paro cardíaco súbito no hospitalario y 415 controles; apareados por edad. Sexo y momento del año	Estudio de casos y controles	Relación entre los niveles de ALA en eritrocitos y el riesgo de muerte cardíaca súbita	Los valores de OR de los cuartiles de ALA en eritrocitos tras ajuste multivariable (comparado con Q1) fue Q2 de 1,7 (IC 95%: 1.0-3.0), Q3: 1,9 (1,1-3,3) y Q4: 2,5 (1,3-4,8); relación independiente de los niveles de EPA y DHA, ALA y ácidos grasos trans en eritrocitos	Ninguno	(Lemaitre RN y col., 2009)
150 individuos moderadamente hiperlipidé-micos	RCT en paralelo y con placebo (6 meses)	0,8 o 1,7 g de EPA+DHA/día, 4,5 o 9,5 g/día de ALA, o control de AGPI $\omega$ -3 (AGP $\omega$ -3 incorporados en 25 g de grasa y 3 cápsulas/día)	No hubo diferencias para el perfil lipídico y niveles plasmáticos de glucosa, $\alpha$ -tocoferol, antioxidantes e insulina, tanto en ayunas como posprandial. Los triglicéridos en ayunas fueron menores tras la intervención con EPA+DHA que con ALA. La susceptibilidad a la oxidación de las LDL fue mayor tras la intervención con EPA+DHA	Ninguno	(Finnegan YE y col., 2003)
57 ancianos ( $\geq 65$ años) (19 hombres y 38 mujeres)	Estudio de casos y controles	Relación entre los niveles de ALA en eritrocitos y el riesgo de demencia moderada ( <i>Mini Mental Status Examination</i> )	El análisis logístico multivariable mostró que un mayor nivel de ALA disminuye el riesgo de demencia moderada tra ajustarse por edad, sexo y altura	Ninguno	(Kim M y col., 2010)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; ALA, ácido  $\alpha$ -inolénico; DHA, ácido docosahexaenoico; ECV, enfermedades cardiovasculares; EPA, ácido eicosapentaenoico; OR, Oddratio

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
34 diabéticos de tipo 2 (52,4 $\pm$ 1,5 años; 17 hombres y 17 mujeres)	RCT (12 semanas)	Los participantes consumieron una selección de productos de pastelería que no contenían (n=9), con semillas de lino molidas (n=13; 32 g/día) o con aceite de lino (n=12; 13g/día)	Los grupos con semilla de lino o aceite de lino aumentaron los niveles plasmáticos de AGP $\omega$ -3 fosfolipídicos, pero no DHA, y el grupo de aceite de lino mostró más EPA y DPA en los fosfolípidos del plasma que el grupo de semillas de lino. Todos los grupos mostraron idénticas ingestas calóricas: El grupo de control ganó el 4% de peso corporal, mientras que ambos grupos con lino no mostraron cambios en su peso corporal	Ninguno	(Taylor CG y col., 2010)
59 hombres dislipidémicos de mediana edad	RCT en 2 grupos (12 semanas)	Dieta con un suplemento de aceite de lino enriquecido en ALA (8 g/día)	La suplementación con aceite de lino disminuyó la presión arterial sistólica y diastólica	Ninguno	(Paschos GK y col., 2007)
62 hombres y mujeres posmenopáusicas con bajos niveles de LDL-colesterol (130-200 mg/dL)	RCT (10 semanas)	40 g/día de productos de panadería que contienen semillas de lino o productos con salvado de trigo, ambos con una dieta baja en grasas y colesterol	Las semillas de lino fueron bien toleradas e incrementaron los niveles séricos de ALA, redujeron el LDL-colesterol a las 5 semanas, pero no a las 10, redujeron el índice HOMA-IR, sin afectar los marcadores de inflamación (IL-6 y HsPCR) o de estrés oxidativo (LDL <sub>ox</sub> e isoprostanos urinarios). En hombres, las semillas de lino disminuyeron las concentraciones de HDL-colesterol tanto a las 5 como a las 10 semanas	Ninguno	(Bloedon LT y col., 2008)
35 hombres dislipidémicos no diabéticos (38-71 años)	RCT (12 semanas)	15 ml/día de aceite de lino rico en ALA (8,1g; n=18) o 15 ml/día de aceite de cártamo (11,2g de ácido linoleico; n=17; grupo control)	La suplementación con ALA de aceite de lino no modificó el IMC, las concentraciones lipídicas en suero, la densidad de las LDL, ni los niveles plasmáticos de TNF- $\alpha$ y adinopectina	Ninguno	(Paschos GK y col., 2007)

ALA, ácido  $\alpha$ -inolénico; HDLc, colesterol en HDL; HOMA-IR, maracador de restencia homeostático a la insulina; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad; TNF, factor de necrosis tumoral



**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
56 participantes (49 mujeres y 7 hombres; 20-70 años) sin coronariopa-tías	RCT a doble ciego y con placebo (26 semanas)	3 g/día de ALA de aceite de lino en cápsulas (n=31) o aceite de oliva en cápsulas placebo (n=25)	Los cambios en las concentraciones plasmáticas de HDL-colesterol, LDL-colesterol y triglicéridos no difirieron entre los grupos. La concentración plasmática de colesterol total fue mayor en el grupo con aceite de lino y ligeramente mayor en las subfracciones aterogénicas LDL1 y LDL 2.	Ninguno	(Harper CR y col., 2007)
10 adultos jóvenes sanos (25+_3años; 5 mujeres y 5 hombres)	RCT (4 semanas)	50 g/día de aceite de lino o control (sin aceite de lino)	El ALA aumentó significativamente en el tejido adiposo y los AGP $\omega$ -3 aumentaron entre la porción lipídica del plasma. EL LDL-colesterol se redujo hasta el 8%, la excreción urinaria total del lignano aumentó más de 5 veces. Las vitaminas antioxidantes y los hidroperóxidos lipídicos no se alteraron por el consumo de aceite de lino. La movilidad intestinal por semana aumentó el 30% mientras se consumió el lino	Ninguno	(Cunnane SC y col., 1995)
150 hombres y mujeres sanos (25-72 años)	RCT en paralelo, a doble ciego y con placebo (6 meses)	Placebo (sin AGPI $\omega$ -3), 4,5 o 9,5 g/día de ALA, y 0,77 o 1,7 g/día de EPA+DHA. Los AGPI $\omega$ -3 se administraron en 25 g de grasa más 3 cápsulas	Una ingesta $\leq$ 1,7g/día de EPA+DHA no modifica la actividad funcional de neutrófilos, monocitos o linfocitos, pero cambia la composición ácidos grasos de las células mononucleares	Ninguno	(Kew S y col., 2003)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; ALA, ácido  $\alpha$ -inolénico; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; HDLc, colesterol en HDL; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad.

**Tabla 9. Continuación (Aceite de Pescado)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
244 niños sanos (12-16 días; peso mínimo al nacer: 2500g)	RCT en paralelo, a doble ciego y con placebo	Los niños recibieron las dietas experimentales entre los días 14 y 120 de edad: control (dieta a base de soja sin suplementación); DHA+ARA (dieta a base de soja suplementada con 17 mg de DHA/100Kcal de aceite de algas y 34 mg de ARA/100Kcal de aceite de hongos)	Los porcentajes de DHA y ARA en hemáties y fosfolípidos del plasma fueron más elevados en niños del grupo de DHA+ARA a los 120 días de edad: La tasa de crecimiento no difirió entre los grupos. Ambos grupos mostraron un crecimiento correcto y ambas fórmulas fueron bien toleradas	Ninguno	(Hoffman D y col., 2008)
48 individuos jóvenes (13 hombres y 35 mujeres)	RCT en paralelo, a doble ciego y placebo	2 semanas de lavado en dieta rica en AGM (21% de la energía) seguido de 3 semanas de dietas ricas en AGP $\omega$ -3 con el 1% de la energía en forma de ALA, EPA o DHA. AGPI $\omega$ -3 se obtuvieron de aceite de colza y margarinas	La ingesta de ALA, EPA o DHA representó un enriquecimiento de las partículas de LDL en estos ácidos grasos y EPA fue el ácido graso que se incorporó preferentemente. El enriquecimiento en ALA no incrementó la capacidad de oxidación de LDL	Ninguno	(Egert S y col., 2007)
23 individuos (49+_1,6 años; 20 hombres y 3 mujeres, con IMC de 25-35Kg/m <sup>2</sup> )	Estudio aleatorizado y cruzado (3 períodos)	Dieta norteamericana media (34% de grasa total; 13% de AGS; 13% de AGM, y 9% de AGP (7,7% de ácido linoleico y 0,8% de ALA); dieta con ácido linoleico (37% de grasa total; 9% de AGS; 12% de AGMI, y 16% de AGP (12,6% de ácido linoleico y 3,6% de ALA); dieta con ALA (38% de grasa total; 8% de AGS; 12% de AGM, y 17% de AGP (10,5% de ácido linoleico y 6,5% de ALA). Fuentes mayoritarias de AGP $\omega$ -3: aceite de lino y aceite de nueces. 6 semanas de periodos de dieta, separadas por periodos de 3 semanas, durante los cuales los individuos consumían su dieta habitual	Los niveles de N-telopéptido disminuyeron en la dieta con ALA. No hubo diferencia entre las 3 dietas en los niveles de fosfatasa alcalina específica del hueso. Las concentraciones de N-telopéptido mostraron una correlación positiva con la citosina proinflamatoria del TNF- $\alpha$ en las 3 dietas	Ninguno	(Griel AE y col., 2007)

AGM, ácidos grasos monoinsaturados; ARA, ácido araquidónico; TNF, factor de necrosis tumoral.

**Tabla 10.** Resumen de diferentes estudios de intervención con ácidos grasos omega-3 procedentes de **derivados lácteos enriquecidos**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
8 voluntarios normo-lipídemicos, consumidores habituales de leche semidesnatada y no consumidores de pescado durante el estudio	RCT (6 semanas)	500 mL/día de leche semidesnatada, 1 mes; a continuación, consumo de 500 mL/día de un derivado lácteo comercial que aporta 400 mg/día de AGP $\omega$ -3 (300 mg de EPA+DHA; 15 mg de vitamina E)	La ingesta del derivado lácteo enriquecido que aporta pequeñas cantidades de EPA y DHA a individuos sanos implica que éstos incrementan de forma notable sus niveles de AGP $\omega$ -3 y vitamina E en plasma con una relación directa a un aumento del HDL-colesterol y una disminución de triglicéridos.	Ninguno	(Visioli F y col., 2000)
30 individuos (45-65 años)	RCT (8 semanas)	500 mL/día de leche semidesnatada durante 4 semanas; a continuación 500 mL/día de leche enriquecida en AGPI $\omega$ -3 (60 mg/100mL de EPA y DHA)	La leche enriquecida en AGP $\omega$ -3 disminuyó la concentración de triglicéridos, colesterol total y LDL-colesterol en plasma, así como los niveles plasmáticos de homocisteína, molécula de adhesión endotelial 1, y aumentó la concentración de ácido fólico. Las concentraciones plasmáticas de vitamina E y la oxidabilidad de las LDL no cambiaron	Ninguno	(Baró L y col., 2003)
31 hombres (30-60 años) moderadamente hiperlipi-démicos y normotensos	RCT	Cápsulas de 4,5 g/día de EPA+DHA en cápsulas (n=25); control (n=6); 3 semanas de periodo inicial (base) y 5 semanas de intervención	No hubo diferencias entre los grupos respecto a los niveles de colesterol total, LDL-colesterol, apolipoproteína B y presión arterial	Ninguno	(Cobiac L y col., 1991)
51 pacientes (25 mujeres y 26 hombres) moderadamente hipertrigliceridémicos	RCT, cruzado, a doble ciego y con placebo	Ambos grupos se sometieron a 15 semanas de intervención (3g/día de AGPI $\omega$ -3) y de control mediante derivados lácteos con un periodo de 10 semanas de lavado entre los 2 tratamientos	El consumo de derivado lácteos enriquecidos en AGP $\omega$ -3 mejoró los factores de riesgo frente a ECV	Ninguno	(Dawczynski C y col., 2010)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; HDLc, colesterol en HDL; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad.

**Tabla 10. Continuación (Derivados lácteos enriquecidos)**

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGP $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
25 individuos sanos (12 hombres y 13 mujeres; 19-68 años)	RCT cruzado y a simple ciego	Dieta de control (33,3g de grasa, con 30g aportados por oleína de palma y aceite de soja, en una relación de 4:1) y dieta rica en AGP $\omega$ -3 (23,2g de grasa de control y 6,8 g de aceite de pescado, que aporta 2,0 g de EPA y 2,7 g de DHA, equivalente a 2 raciones de pescado azul) en 2 ocasiones de forma aleatoria. Se tomaron medidas posprandiales a 30,60,90 180 y 240 minutos	El consumo de la dieta rica en AGP $\omega$ -3 atenuó el índice de aumento y el índice de rigidez de las arterias	Ninguno	(Chong MF y col., 2010)
88 niños (3-9 años)	RCT (7 meses)	Consumo de 500mL/día de un derivado lácteo enriquecido en AGPI $\omega$ -3 (60% de aceite de oliva, 20% de aceite de cacahuete y 20% de aceite de girasol), que contiene una cuarta parte de la grasa saturada presente en la leche entera	El derivado lácteo enriquecido redujo los niveles séricos de colesterol total y LDL-colesterol sin modificar la ingesta calórica	Ninguno	(Estevez-González MD y col., 1998)
297 individuos (25-65 años) con riesgo moderado de ECV	RCT longitudinal (1 año) de intervención a doble ciego	Intervención :1) 500mL/día de leche enriquecida (EPA, DHA, Ácido oleico, ácido fólico y vitaminas A, B <sub>6</sub> , D y E) y 2) 500mL/día de leche desnatada, y 3) 500mL/día de leche semidesnatada (control)	El consumo de leche enriquecida incrementó los niveles séricos de folato y HDL-colesterol y disminuyó los triglicéridos, el colesterol total y el LDL-colesterol. Los niveles de glucosa, homocisteína y PCR permanecieron inalterados	Ninguno	(Fonollá J y col., 2009)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad.

**Tabla 10.** Continuación (**Derivados lácteos enriquecidos**)

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGPw-3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
60 pacientes masculinos (60-67 años) con enfermedad vascular periférica y claudicación intermitente	RCT longitudinal (1 año) de intervención a doble ciego	Intervención: 1) 500mL/día de leche enriquecida (EPA, DHA, ácido oleico, ácido fólico y vitaminas A, B <sub>6</sub> , D y E) 2) 500mL/día de leche semidesnatada con vitaminas A y D (control)	Las concentraciones plasmáticas de EPA, DHA, Ácido oleico, ácido fólico y vitaminas B <sub>6</sub> y E aumentaron y las de colesterol total y apolipoproteínas B disminuyeron tras la suplementación. La homocisteína total disminuyó solo en los pacientes que mostraron valores iniciales elevados. La distancia recorrida antes de la claudicación aumentó en el grupo suplementado y el valor del índice de presión tobillo-brazo aumentó	Ninguno	(Carrero JJ y col., 2005)
40 pacientes masculinos con IAM (50-60 años)	RCT longitudinal (1 año) de intervención a doble ciego	Intervención: 1) 500mL/día de leche enriquecida (EPA, DHA, ácido oleico, ácido fólico, y vitaminas A, B <sub>6</sub> , D y E) y 2) 500mL/día de leche semidesnatada con vitaminas A y D (control)	Las concentraciones plasmáticas de EPA, DHA, ácido oleico, ácido fólico y vitaminas B <sub>6</sub> y E aumentaron y las de colesterol total, LDL-colesterol, apolipoproteína B y HsPCR disminuyeron tras la suplementación. No se produjeron cambios en los niveles de homocisteína, frecuencia cardíaca, presión arterial y parámetros electrocardiográficos en ninguno de los 2 grupos	Ninguno	(Carrero JJ y col., 2007)
72 pacientes con síndrome metabólico	Estudio clínico controlado y abierto de diseño paralelo (3 meses)	Intervención: 500mL/día de leche semidesnatada (grupo control; n=36) y 500mL/día de leche semidesnatada enriquecida (5,7 g de ácido oleico; 0,2g de EPA+ DHA; 150µg de ácido fólico y 7,5mg de vitamina E ; n=36)	La leche semidesnatada enriquecida con EPA y DHA disminuyó los niveles séricos de colesterol total, LDL-colesterol, triglicéridos y apolipoproteína B, y los niveles plasmáticos de glucosa y homocisteína	Ninguno	(Benito P y col., 2006)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad.

**Tabla 10.** Continuación (**Derivados lácteos enriquecidos**)

Participantes	Diseño	Intervención y Dosis de AGPI $\omega$ -3	Beneficios para la salud	Riesgos para la salud	Autor
74 hombres y mujeres sanos normolipidé-micos (19-43 años)	RCT (6 semanas)	Intervención: 4,4g/día de ALA (grupo ALA), 2,2g/día de EPA (grupo EPA), y 2,3 g/día de DHA (grupo DHA). Los Estilésteres de ácidos grasos se incorporan a través de margarinas, que sustituyen el componente graso habitual de los participantes	La ingesta de ALA, EPA o DHA representa un enriquecimiento de las LDL en los respectivos AGPI $\omega$ -3, pero no afecta las concentraciones séricas de colesterol total y LDL-colesterol y disminuye las de triglicéridos. La ingesta de DHA incrementa el HDL-colesterol sérico, que no cambia tras la ingesta de ALA o EPA	Ninguno	(Eger S y col., 2009)

AGP, ácidos grasos poliinsaturados; ALA, ácido  $\alpha$ -inolénico; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; HDLc, colesterol en HDL; LDLc, colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad

## Funciones fisiológicas de los PUFA W-6 y W-3 y de los eicosanoides

### Ácidos grasos poliinsaturados e inmunidad

En los seres humanos las dos existen dos familias de AGP denominadas W-3 y W-6 las cuales no son intercambiables entre sí y que se originan por la insaturación y elongación de dos AGE que son el ácido alfa linolénico y el ácido linoleico.

Estudios en ratones demostraron que cuando se les suministraban dietas bajas en AGE se producían disminuciones en el peso del timo y del bazo además de una respuesta disminuida en la proliferación linfocitaria, el quimiotactismo de los neutrófilos, la toxicidad de los macrófagos y una hipersensibilidad cutánea retrasada; todo esto puede ser porque las células del sistema inmunitario necesitan de estos AGE para formar membranas, es de vital importancia la producción de eicosanoides derivados de los ácidos eicosatrienoico, araquidónico y EPA. Estos compuestos en especial prostaciclina, prostaglandinas y leucotrienos, regulan la inflamación y la función de los neutrófilos, así como de los linfocitos B y T (Gil A y col., 2010; Tull SP y col., 2009).

Dependiendo de la dieta, la capacidad de las células inflamatorias de producir eicosanoides proinflamatorios estará aumentada o disminuida. Cuando la cantidad de EPA es mayor es menor la producción de los proinflamatorios (Gil A y col., 2010) así monocitos y macrófagos modifican la producción de citocinas por efecto de los AGPI w-3 (Tull SP y col., 2008) dichos AG protegen frente a los efectos de las endotoxinas y son útiles en terapias antiinflamatorias como por ejemplo en la AR o en la EII (Dawczynski y col., 2009)

EPA es sustrato de ciclooxigenasas y lipooxigenasas y sus mediadores son diferentes de los que se forman a partir del AA (Gil A y col., 2010). Se ha visto que los neutrófilos de voluntarios sanos que tomaban pescado durante varias semanas presentaban mayor cantidad de leucotrienos de la serie 5 (LT5) (Lee TH y col., 1985; Calder PC y col., 2008); los producidos a partir del EPA son mucho menos activos biológicamente que los que se forman a partir del AA (Gil A y col., 2010; Goldman DW y col., 1983). E incluso, pueden actuar como antagonistas de los mediadores derivados del AA (Gil A y col., 2010; Tull SP y col., 2009)

### Relación entre inflamación y AGPI $\omega$ -3.

La inflamación es una reacción compleja del tejido conjuntivo vascularizado en respuesta a un estímulo lesivo local que se caracteriza por la acumulación de fluido y leucocitos en los tejidos extravasculares. La inflamación tiene como función localizar, diluir y destruir al agente causante de la lesión y, a la par, iniciar una serie de acontecimientos que contribuyen a reconstruir y curar el tejido lesionado. Celso, un autor latino del siglo I d C, fue el primero que descubrió los cuatro signos cardinales de la inflamación: Rubor, tumor, calor y dolor. Más adelante se añadió el quinto signo clínico de la inflamación, que es la pérdida de función.



**Figura 18.**

Derecho de autor: [Csaba Deli](#)

Las características de la inflamación aguda son: Modificaciones en el tamaño de los vasos que provocan el aumento en el flujo de sangre, alteraciones en la estructura de los microvasos que permiten la salida de la circulación de las proteínas plasmáticas y de leucocitos (exudación), lo que implica que vasos de pequeño calibre cercanos al foco de lesión sufran una alteración en la permeabilidad importante, desde la microvasculatura se produce la migración de los leucocitos hasta el foco de la lesión dónde se acumulan,

El proceso de contracción de células endoteliales está activado por mediadores químicos como la histamina, la serotonina, la bradiquinina, los leucotrienos y otros mediadores químicos, se produce ensanchamiento de las uniones intercelulares y se forman aberturas. Esta respuesta, denominada *inmediata transitoria*, sólo afecta a las vénulas de 20 a 60 micrómetros de diámetro, sin afectar a los capilares ni a las arteriolas. A continuación, el endotelio sufre una retracción por reorganización del citoesqueleto, mediada por las citoquinas IL-1, el TNF- $\alpha$  y el IFN- $\gamma$ . A veces, el endotelio puede ser atravesado por la lesión directa provocada por el estímulo lesivo. En estos casos, la filtración o derrame se mantiene durante bastante más tiempo y pasa a denominarse *respuesta inmediata sostenida*.

La lesión del endotelio la producen en ocasiones los leucocitos adheridos al mismo, liberando enzimas proteolíticas y radicales libres de oxígeno (ROS), con el consiguiente aumento de permeabilidad. Por último, durante el proceso de cicatrización se produce la filtración a través de los capilares en regeneración hasta que las nuevas células endoteliales se diferencian y desarrollan las uniones intercelulares. Con posterioridad, los leucocitos transmigran a través del endotelio (diapédesis) y migran a los tejidos intersticiales dirigidos por estímulos quimiotácticos.

La adhesión y trans migración de los leucocitos están guiadas por la fijación de moléculas complementarias de adhesión entre la superficie de los leucocitos y de las células endoteliales. Varios mediadores químicos de la inflamación influyen sobre estos procesos y modulan la expresión génica de moléculas de superficie, así como la intensidad de fijación.



Los receptores de adhesión pertenecen a tres familias de moléculas: las selectinas, las inmunoglobulinas de superficie y las integrinas.

La E-selectina o ELAM-1 se expresa de forma exclusiva en las células endoteliales activadas en respuesta a citoquinas inflamatorias, como la IL-1 $\beta$  y el TNF- $\alpha$ .

La P-selectina está presente en las plaquetas y en el endotelio, mientras que la

L-selectina o LAM-1 se halla en la mayor parte de los leucocitos.

Las selectinas E y P del endotelio se unen a los oligosacáridos sialilados de varias glucoproteínas presentes en la superficie de los leucocitos.

La L-selectina de los leucocitos se une a glucoproteínas del tipo GlyCAM y CD34 presentes en el endotelio vascular. Las moléculas de tipo inmunoglobulina ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular 1) y VCAM-1 (molécula de adhesión vascular 1), presentes en las células endoteliales, interaccionan con las integrinas de los leucocitos. La expresión de la ICAM-1 se encuentra regulada por el factor de transcripción Nf- $\kappa$ B (factor nuclear  $\kappa$  de linfocitos B), el mismo que se libera por la inducción de mediadores de la inflamación, como la IL-1, el TNF- $\alpha$  y la angiotensina.

La P-selectina está presente en las células endoteliales y se redistribuye con rapidez hacia la superficie celular cuando el endotelio se estimula mediante mediadores, como la histamina, la trombina y el factor activador de las plaquetas (PAF). Además algunos mediadores de la inflamación como la IL-1 y el TNF- $\alpha$  provocan la expresión y aparición en superficie de las moléculas de adhesión endotelial, como la E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1, en un proceso que se inicia las dos horas después de la lesión y transcurre durante un periodo de 4-6 horas.

La intensidad de la fijación está regulada fundamentalmente por las integrinas. Estas moléculas aumentan su afinidad por las moléculas inmunoglobulínicas del endotelio cuando los leucocitos se activan mediante agentes quimiotácticos y otros estímulos.

Se denomina Quimiotaxis a la extravasación de los leucocitos y su migración hasta el foco de la lesión en los tejidos. Posteriormente, todos los granulocitos, monocitos y en menor grado los linfocitos, responden a los estímulos quimiotácticos, de naturaleza exógena, fundamentalmente productos bacterianos y de otros microorganismos tanto de naturaleza proteica como lipídica. Entre los mediadores endógenos, se encuentran el sistema de complemento, sobre todo la fracción C5a, los productos de la vía de la lipooxigenasa, principalmente el leucotrieno (LT) B<sub>4</sub> y las citoquinas, en particular las de la familia IL-8.

La fijación de los agentes quimiotácticos a receptores específicos de membrana de los leucocitos produce la activación de la fosfolipasa C y la generación de señales transmembrana, que provocan incremento del calcio citosólico, que desencadena el ensamblaje de los elementos celulares responsables del movimiento celular, además de esto cuando los factores quimiotácticos están en concentraciones elevadas producen metabolitos del AA, principalmente prostaglandinas (PG) y leucotrienos (LT), debido a la activación de la fosfolipasa A<sub>2</sub>, además de provocar la desgranulación y secreción de enzimas lisosómicas, así como la activación del estallido oxidativo y la modulación de la expresión de moléculas de adhesión leucocitaria, en particular de la integrina LFA-1, lo que permite la unión firme de los neutrófilos activados a la ICAM-1 en el endotelio. Además, el TNF- $\alpha$  actúa como cebador en la activación de los leucocitos, lo que aumenta la activación de estas células por parte de otros agentes quimiotácticos.

Debido a la liberación de enzimas proteolíticos y a la fagocitosis y a neutrófilos y macrófagos como consecuencia de los leucocitos en el foco de la inflamación se produce el reconocimiento con el microorganismo cuando está opsonizado por Fc de la inmunoglobulina G (IgG) y la fracción C3b del complemento, e interaccionan con los receptores específicos FcγR, que reconoce el fragmento Fc de la IgG, y los receptores del complemento 1, 2 y 3 (CR1, 2, 3). Con la partícula opsonizada al receptor FcγR es lo que pone en marcha el englobamiento que se intensifica con los receptores de complemento

La unión de ligandos y receptores causa la activación de la fosfolipasa C, la producción de diacilglicerol y de inositol trifosfato y, en consecuencia, el aumento de calcio citoplasmático que inicia la serie de acontecimientos celulares que determinan el englobamiento de la partícula extraña. La destrucción de las bacterias, paso final de la fagocitosis, ocurre por mecanismos de producción de ROS. La activación de el fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH)-oxidasa junto con oxígeno y NADPH produce anión superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ). Éste produce peróxido de hidrógeno por dismutación espontánea en los fagolisosomas. Además, la mieloperoxidasa, presente en los gránulos azurófilos de los neutrófilos, con haluros, como el ión  $Cl^-$ , convierte el peróxido de hidrógeno en el radical hipoclorito (HOCl), el cual destruye las bacterias mediante halogenación de proteínas y de lípidos.

Se inician unas cascadas de reacciones con la unión de ligandos a los receptores y activación de la fosfolipasa C, con la producción de diacilglicerol y de inositol trifosfato, aumento de calcio citoplasmático que englobarán la partícula extraña, la destrucción se producirá por la fagocitosis con producción de ROS, la activación de la fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH)-oxidasa junto con oxígeno y NADPH produce anión superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ), se producirá peróxido de hidrógeno en los fagolisosomas. Además, existe mieloperoxidasa en los gránulos de los neutrófilos, que con haluros como el ión  $Cl^-$ , convierte el peróxido de hidrógeno en el radical hipoclorito (HOCl), el cual destruye las bacterias mediante halogenación de proteínas y de lípidos.

## **MARCADORES DE LA INFLAMACIÓN.**

Por muchos estudios son conocidas la relación existente entre las altas ingestas de AGPI W-3 y la reducción de citoquinas e indicadores de la inflamación, pero los ensayos controlados aleatorios que utilizan ingestas inferiores, tal y como se suele consumir en dietas habituales, no han conseguido demostrar ningún efecto. Hay evidencia posible de que los AG trans aumentan la inflamación sistémica (Baer DJ y col., 2004), pero no todos los estudios (Motard-Belanger A y col., 2008) han mostrado tales efectos de forma consistente.

Cuando la relación entre CT/HDL es alta se ha asociado con inflamación crónica y riesgo cardiovascular. (Sánchez-Muniz y col.,)

La inflamación crónica se asocia con elevación de proteínas de fase aguda entre las que se incluyen el fibrinógeno y la proteína "C" reactiva, y se cree que puede estar mediada por la producción elevada de citoquinas, especialmente la IL-6, factores que incrementan esta interleucina son entre otros la. Un aumento en la

ingesta de AGPI w-3 reduce la producción de citoquinas y de indicadores de la inflamación (Baer DJ y col., 2004)

Las células del sistema inmunitario necesitan de estos AGE para formar sus membranas y dependiendo de la producción de eicosanoides derivados de ácido eicosatrienoico, del AA y del EPA determinaran la producción de prostaciclina, prostaglandinas y leucotrienos que regulan la inflamación y la función de neutrófilos ; así como de linfocitos T y B. (Gil-Hernández A y col., 2010; los AGPI omega-3 protegen o son coadyuvantes en las terapias antiinflamatorias de enfermedades como la artritis reumatoide y la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (Dawczynski C y col., 2009)

La importancia de los eicosanoides derivados de EPA es menor poder antiinflamatorio (Sperling RI, 1995; Cleland LG y col., 2006), frente a los derivados del AA e incluso pueden actuar como antagonistas de estos (Sperling RI, 1995; Cleland LG y col., 2006).

Los PUFA dan buenos resultados en el tratamiento de la hiperlipidemia porque promueven el metabolismo de oxidación de los AG, además de reducir la expresión de otros genes que están implicados en la síntesis de novo de los lípidos (la esteroil CoA desaturasa, la acetil-CoA carboxilasa y la sintasa de AG) (Jump DB., 2002; sampath H y col., 2005),

Los PUFA activan a los PPAR $\alpha$  (receptores que estimulan la proliferación de peroxisomas) y a su vez reducen la concentración nuclear de la proteína de unión al elemento de respuesta a hidratos de carbono (ChREBP)/Max-like factor X (MLX) y de la proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides (SREBP-1). La activación de los PPAR $\alpha$  por los PUFA asegura la oxidación de los AG, mientras que la reducción de las SREBP-1 y ChREBP/MLX tiene como resultado la inhibición de la síntesis de novo de los AG.

Otras acciones de estos AGP son la de inhibir la transcripción del gen de la leptina, la cual es una hormona que se produce en los adipocitos y que regula tanto el apetito como el peso corporal y la adiposidad, la sustitución de los AGS por los insaturados en la dieta refleja una disminución de esta hormona en plasma (Reseland JE y col., 2001; Duplus E y col., 2000), además de inhibir la sintasa de AG en el tejido adiposo

Cuando los fosfolípidos incorporan DHA aumenta la expresión endotelial de la E-selectina, la ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular 1) y la VCAM-1 (molécula de adhesión celular vascular 1) y se reduce a su vez la capacidad de adhesión de los monocitos al endotelio vascular, este efecto no se ha encontrado para el EPA (de Caterina R y col., 1996), otro efecto del DHA es controlar la abundancia nuclear de la SREBP-1. La abundancia nuclear de la ChREBP/MLX, parece igualmente sensible a una amplia gama de PUFA n-3 y n-6 de carbonos C18-22 (Jump DB., 2008). El EPA también activa los PPAR $\alpha$ .

Las funciones de estos AG son la modulación de la inflamación, la respuesta inmunitaria, la agregación plaquetaria, el crecimiento y proliferación celular y contracción y dilatación de las células del músculo liso; es importante el equilibrio de la síntesis de los eicosanoides, un desequilibrio da lugar a patologías como el asma, inflamación etc (Calder PC., 2006).

Por todo lo expuesto es deducible que la sustitución de AGS por AGP sea beneficiosa a nivel cardiovascular entre otras, tanto la cantidad como la calidad de los lípidos modifican la respuesta inmunitaria y si existe exceso de grasa en la dieta y sobre todo de AG saturados se producirá un efecto inmunodepresivo, por el

contrario los AGE mantendrán una respuesta inmunitaria adecuada, sobre todo los omega-3; es importante también la forma en la que se administran tanto EPA como DHA, para la expresión génica, la función celular y la fisiología (Gorjão R y col., 2009).

### **SENSIBILIDAD A LA INSULINA**

La actividad física regular y la pérdida de peso en sujetos obesos o con sobrepeso mejora la sensibilidad a la insulina (Mayer-Davis EJ., 2003). Estudios en animales indican que las dietas ricas en AGS disminuyen la sensibilidad a la insulina y que los LCPUFA n-3 mejoran la sensibilidad a la insulina. Sin embargo, los ensayos controlados aleatorios han fracasado generalmente en ofrecer un efecto consistente tanto del cambio de la cantidad de grasa como del tipo de grasa en la sensibilidad a la insulina cuando se tienen en cuenta los cambios en el peso o la actividad física (Griffin MD y col., 2006; Tardy AL y col., 2009; Vessby B y col., 2001). Es probable que se produzca una mejora de la sensibilidad a la insulina en el caso de que una reducción de consumo energético y pérdida de peso acompañe al descenso en el consumo de grasa de la dieta (Tuomilehto J y col., 2001; Orchard TJ y col., 2005; Roumen C y col., 2008).

Los lípidos influyen en la respuesta inmunitaria, los AGS ejercen efectos inmunodepresores mientras que los AGE y sus derivados son necesarios para mantener una respuesta inmunitaria adecuada; los AGPI n-3 poseen efectos antiinflamatorios que compiten con los derivados del AA

La respuesta inmunitaria:

- Previene la entrada de organismos infecciosos
- Identifica los organismos infecciosos si penetran en el organismo.
- Elimina los organismos infecciosos que hayan penetrado
- Mantiene la memoria de los encuentros con estos organismos.

Tipos de inmunidad

Existen dos tipos de inmunidad, la inmunidad innata que es la primera línea de defensa. Esta inmunidad carece de memoria y, por lo tanto, no está influida por la exposición anterior a un microorganismo determinado o a un antígeno. Las células del sistema inmunitario innato incluyen células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos y monocitos), células NK, mastocitos, eosinófilos y basófilos. Estas células destruyen los agentes patógenos mediante diferentes procesos, incluyendo la fagocitosis y la producción de toxinas (por ejemplo tipos de oxígeno reactivo) (Ruiz-Bravo A y col., 2010). Y la inmunidad adquirida o adaptativa que es específica y se desarrolla a lo largo de la vida, la especificidad se debe a los antígenos-específicos del huésped (r

Existe la denominada inflamación crónica que se puede dar por infecciones persistentes producidas por bacterias y hongos, también por la exposición a agentes potencialmente tóxicos, exógenos o endógenos y en las enfermedades autoinmunitarias.

En la inflamación crónica pueden observarse signos de inflamación activa, de destrucción y de reparación tisular; sus manifestaciones son por infiltración tisular de células mononucleares, (macrófagos, linfocitos y células plasmáticas), con destrucción tisular provocada por las células inflamatorias y reparación de tejidos mediante la sustitución por tejido conjuntivo (fibrosis) con proliferación de vasos pequeños (angiogénesis). Los monocitos son el tipo celular que predominan en el

tejido lesionado. La extravasación de los monocitos está controlada por los mismos mediadores que la de los neutrófilos, y en su conversión a macrófagos actúan algunas citoquinas, como el INF- $\gamma$ , segregado por los linfocitos T sensibilizados por diferentes agentes, como las endotoxinas bacterianas y proteínas de la MEC.

Posteriormente se acumularán macrófagos por el refuerzo continuado de monocitos que proceden de la circulación sanguínea. Entre los estímulos quimiotácticos de los macrófagos se encuentran el C5<sub>a</sub>, las citoquinas de la familia de la IL-8, producidas por los propios macrófagos y por los linfocitos T activados, la proteína quimioattractiva de los macrófagos 1 (MCP-1) y factores de crecimiento como el PDGF y el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), además de fragmentos de colágeno, fibrinopéptidos y fibronectina. La inmovilización de los macrófagos se va a deber a la existencia de citoquinas como el factor inhibidor de los macrófagos y de lípidos oxidados.

Existe una relación inversa entre el contenido de EPA en las membranas de las células mononucleares y en su capacidad de formación de citoquinas proinflamatorias, cuando la cantidad de EPA en estas membranas es del 1% del total de los AG la síntesis de estas citoquinas es mínima ello puede deberse a la depresión en la formación de PG y TX de la serie 2.

En poblaciones donde el consumo de pescado es elevado como los esquimales presentan menor incidencia de EI; en otros estudios los resultados aconsejan el uso de los AGPI  $\omega$ -3 como coadyuvantes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades inflamatorias (Gil A y col., 2012; Calder PC., 2011; FAO y FINUT, 2012).

**Tabla 11.** Resumen de estudios con Ácidos grasos omega-3 relacionados con la inflamación

Estudio	Participantes /enfermedad/ edad	Dosis	Tiempo	Principales resultados obtenidos
Mayer K y col., (2003)	n=12; adultos sanos	EPA= 4,55-9,8g/día +DHA= 4,9-10,9g/día	2 períodos de 48 horas	Un aceite de pescado basado en $\omega$ -3 suprime de manera significativa la generación de monocitos de citoquinas proinflamatorias y la característica del reclutamiento de monocitos
Pot GK y col., (2009)	n= 77; adultos sanos de mediana edad	3,5g/día de aceite de pescado (1,5g/día total de AGPI $\omega$ -3)	12 semanas	1,5g/día de AGP $\omega$ -3 afectan de manera significativa la respuesta inflamatoria en el suero de individuos sanos
Bowens M y col., (2009)	n= 111; adultos sanos	Dosis alta: 1,8g de EPA+DHA; dosis baja: 0,4g de DHA+EPA	26 semanas	La ingesta de EPA+DHA durante 26 semanas puede conducir la expresión génica de las PBMC a un estado más antiinflamatorio y antiaterogénico
Bloomer RJ y col., (2009)	n= 15; hombres sanos entrenados	EPA= 2,224g/día+ DHA= 2,208g/día	6 semanas	La suplementación de EPA/DHA incrementa el nivel de estos ácidos grasos en la sangre, lo que ofrece como resultado la disminución de biomarcadores inflamatorios en estado de reposo de hombres que siguen un entrenamiento
Engler MM y col., (2005)	n= 20, niños con hiperlipidemia	DHA= 1,2g/día	6 semanas	La suplementación con DHA restaura el endotelio en la vasodilatación mediada por flujo en niños hiperlipidémicos. El endotelio es, entonces, una diana terapéutica para el DHA
Skulas-Ray AC y col., (2011)	n= 28; hipertrigliceridemia	EPA= 0,85g/día y DHA= 3,4g/día; 8 semanas	8 semanas	La dosis de 3,4g/día de EPA/DHA reduce de manera significativa los triglicéridos
Zhao YT y col., (2009)	n= 76; insuficiencia cardíaca	2g de AGPI $\omega$ -3 (EPA=0,18g+ DHA= 0,12g en forma de etilestéres g/día	3 meses	Los AGPI $\omega$ -3 pueden reducir los niveles en plasma de algunas citoquinas proinflamatorias, como IL-6, TNF- $\alpha$ , y sICAM-1, en pacientes con insuficiencia cardíaca y de NT-proBNP como biomarcador de riesgo en la insuficiencia cardíaca
Cawood AL y col., (2010)	n= 121; endarterectomía carotídea	EPA= 0,81g/día +DHA= 0,675g/día	21 días de media	Al parecer, las placas ateroscleróticas avanzadas incorporan fácilmente EPA de los AGPI y el mayor contenido de EPA en las placas carotídeas se asocia con menor número de células espumosas y T, menor inflamación e incremento en la estabilidad

**Tabla 11.** Resumen de estudios con Ácidos grasos omega-3 relacionados con la inflamación **(Continuación)**

Estudio	Participantes /enfermedad/ edad	Dosis	Tiempo	Principales resultados obtenidos
Vedin J y col., (2008)	n= 25; enfermedad de Alzheimer	EPA= 0,6g/día +DHA= 1,7g/día	6 meses	Suministrar DHA enriquecido en $\omega$ -3 incrementa la concentración de DHA y EPA, lo que se asocia con la reducción en la producción de IL-1 $\beta$ , IL-6 y el factor estimulante de la colonia de granulocitos de los PBMC
Perunicic-Pekovic GB y col., (2007)	n= 42; enfermedad renal crónica	2,4g/día de AGP $\omega$ -3	2 meses	Un régimen alimentario que incluya aceite de pescado puede utilizarse en pacientes en diálisis para disminuir el desarrollo de aterosclerosis
Bouwens M y col., (2009)	n= 33; enfermedad renal	EPA= 0,96g/día+ DHA= 0,6g/día	6 meses	Consumir 0,96g/día de EPA y 0,6g/día de DHA puede reducir la PCR
Wang X y col., (2008)	n= 40; pancreatitis aguda	0,15-0,2g/Kg/día de aceite de pescado (Omegaven al 10%)	5 días	La nutrición parenteral suplementada con AGP $\omega$ -3 disminuye la respuesta hiperinflamatoria con el incremento de EPA y reduce las citoquinas proinflamatorias en la pancreatitis aguda grave
Mayer K y col., (2003)	n= 10; shock séptico	EPA= 5,2-11,2g+ DHA= 5,6-12,4g	10 días	Emulsiones lipídicas de $\omega$ -3 frente a $\omega$ -6 influyen de forma diferencial en el perfil de ácidos grasos libres en plasma y tienen impacto en las funciones de los neutrófilos
Barbosa VM y col., (2010) I	n= 23; sepsis	6,4g/día de aceite de pescado (promedio de 1,6g de EPA/día+0,7g de DHA/día)	5 días	La inclusión de aceite de pescado en pacientes con nutrición parenteral incrementa los niveles de EPA en plasma y modifica la concentración de citoquinas inflamatorias
Almallah YZ y col., (2000)	n= 18; proctitis	3,2g/día de EPA; 2,4g/día de DHA	6 meses	Menor actividad de células NK. Disminución de LTB <sub>4</sub> en suero; menor número de células CD3, HLA e IgM
McCall TB y col., (1989) I	n= 6; colitis ulcerosa	3-4g/día de EPA	12 semanas	Mejoría de síntomas; descenso de LTB <sub>4</sub>
Hawthorne AB y col., (1992)	n= 96; colitis ulcerosa	4,5g/día de EPA	4 meses	Disminución del uso de esteroides; descenso de LTB <sub>4</sub> en neutrófilos
Stenson WF y col., (1992)	n= 24; colitis ulcerosa activa	5,4g/día de $\omega$ -3	4 meses	Ganancia de peso; mejora de la histología del colon; disminución de LTB <sub>4</sub> en pacientes dializados rectales

**Tabla 12.** Resumen de la revisión sistemática de estudios relacionados con los AGP W-3

Autor	Diseño	Tamaño de la muestra (n)	Dosis de EPA+DHA (g/día)	Duración (semanas)	Placebo	Comentarios
Kremer y col., (1985)	Paralelo; 2 brazos	Control:25(21 completaron) $\omega$ -3:27(23comple-taron; sólo se analizaron los datos de 17 debido a falta de apego)	1,8+1,2	12	Aceite de parafina	
Kremer y col., (1987)	Aleatorio cruzado (4 semanas de lavado)	40(33 completaron las dos partes del estudio)	2,7+1,8	14	Aceite de oliva	
Belch y col., (1988)	Paralelo;3 brazos	Control:18 (8 completaron) $\omega$ -3(+ácido linolénico):15 (13 completaron) Ácido linolénico:16(13comple taron)	0,24(DHA no especificado) +0,54 de ácido linolé-nico	52 (+12 en el grupo placebo)	Aceite de Parafina	Los pacientes solicitaron reducir el tratamiento con AINE
Cleland y col., (1988)	Paralelo; 2 brazos	Control:30 (23 completaron) $\omega$ -3:30 (23 completaron)	3,2+2,0	12	Aceite de oliva	
Magaro y col., (1988)	Paralelo; 2brazos	12:la distribución en los grupos no está especificada	1,6+1,1	4	El grupo de control no recibió placebo	No fue controlado de forma apropiada; el tratamiento no fue ciego; no se menciona el número de bajas ni pacientes que completaron el estudio



**Tabla 12.** Resumen de la revisión sistemática de estudios relacionados con los AGPI W-3 (Continuación)

Autor	Diseño	Tamaño de la muestra (n)	Dosis de EPA+DHA (g/día)	Duración (semanas)	Placebo	Comentarios
Van der Tempel y col., (1990)	Aleatoriza-do; cruzado (no hubo periodo de lavado)	16 (14 completaron)	2,0+1,3	12	Aceite de coco	
Kremer y col., (1990)	Paralelo; 3 brazos	Control:20 (12 completaron) Dosis baja de $\omega$ -3:20 (20 completaron) Dosis alta de $\omega$ -3:20 (17 completaron)	1,7+1,2  3,5+2,4	24	Aceite de oliva	
Tulleken y col., (1990)	Paralelo; 2brazos	Control:14 (14 completaron) $\omega$ -3:14 (13 completaron)	2,0+1,3	12	Aceite de coco	
Sködstam y col., (1992)	Paralelo; 2brazos	Control:23(21comple-taron) $\omega$ -3:23 (22 completaron)	1,8+1,2	24	Mezcla de aceites	
Esperson y col., (1992)	Paralelo; 2 brazos	Control:14 $\omega$ -3:18	2,0+1,2	12	Mezcla de aceites	
Nielsen y Col., (1992)	Paralelo; 2brazos	Control:28(24 completaron) $\omega$ -3:29 (27completaron)	2,0+1,2	12	Aceite vegetal	

**Tabla 12.** Resumen de la revisión sistemática de estudios relacionados con los AGPI W-3 (Continuación)

Autor	Diseño	Tamaño de la muestra (n)	Dosis de EPA+DHA (g/día)	Duración (semanas)	Placebo	Comentarios
Kjeldsen Kragh y col., (1992 )	Paralelo; 3 brazos	Disminución de AINE+ control:28(24completaron) AINE+ω-3:25(20 completaron) Disminución de AINE+ω-3:26(23completaron)	3,8+2,0	16	Aceite de maiz	Los pacientes solicitaron reducir el tratamiento con AINE
Lau y col., (1993)	Paralelo; 2 brazos	Control:32(no especifican el número que completaron el estudio) ω-3:32(no especifican el número que completaron el estudio)	1,7+1,1	52	Aire	Los pacientes solicitaron reducir el tratamiento con AINE
Geusens y col., (1994)	Paralelo; 3 brazos	Control:30(20 completaron) Dosis baja ω-3:30 (21 completaron) Dosis alta ω-3:30(19 completaron)	0,85+0,2 1,7+0,4	52	Aceite de oliva	
Kremer y col., (1995)	Paralelo; 2 brazos	Control:33(26 completaron) ω-3:33(23 completaron)	4,6+2,5	De 26 a 30	Aceite de maiz	

**Tabla 12.** Resumen de la revisión sistemática de estudios relacionados con los AGPI W-3 (Continuación)

Autor	Diseño	Tamaño de la muestra (n)	Dosis de EPA+DHA (g/día)	Duración (semanas)	Placebo	Comentarios
Volker y col., (2000)	Paralelo; 2 brazos	Control:25(13 completaron) $\omega$ -3:25(13 completaron)	Total:40mg/Kg Peso (de-2,2 a 3,0)	15	Mezcla de aceites	
Adam y col., (2003)	Aleatorio, cruzado (8 semanas de lavado)	Diseño cruzado:control frente a $\omega$ -3 cada uno frente al antecedente de dieta occidental(34;30completaron) en orden aleatorio	Aproxi-mada-mente 2,4+1,8	12	Aceite de maiz	
Remans y col., (2004)	Paralelo; 2 brazos	Control:33 (29completaron) $\omega$ -3:33 (26completaron) Control:23(13 completaron)	1,4+0,2(+0,5g de ácido linolénico)en un suplemento líquido, en que se agregaron vitaminas, minerales, y aminoáci-dos y otros nutrientes	16	Suple-mento Líquido sin AGPI añadi-dos	
Sundrarjun y col., (2004)	Paralelo; 2 brazos	$\omega$ -3:23 (13completaron) Control:17 (13 completaron)	1,9+1,5	24	No esta-blecido	
Berbert y col., (2005)	Paralelo; 3 brazos	$\omega$ -3:18 (13completaron) $\omega$ -3+aceite de oliva:20(17comple-taron) Control:48(26comple-taron)	Total:3,0	24	Aceite de soja	Algunos pacientes pueden no haber seguido el tratamiento ciego

**Tabla 12.** Resumen de la revisión sistemática de estudios relacionados con los AGPI W-3 (Continuación)

Autor	Diseño	Tamaño de la muestra (n)	Dosis de EPA+DHA (g/día)	Duración (semanas)	Placebo	Comentarios
Galarraga y col., (2008)	Paralelo; 2 brazos	$\omega$ -3:49 (32completaron) Diseño cruzado(55;21 completaron)	1,5+0,7	36	Aire	Los pacientes solicitaron reducir el tratamiento con AINE
Dawczynsky col	Aleatorio cruzado (8 semanas de Lavado)	Control:100 (91 completaron)	0,7+0,4 mediante alimentos modifica-dos	12	Alimen-tación normal	
Das Gupta y col., (2009)	Paralelo; 2 brazos	$\omega$ -3:100 (90completaron)	No especificado	12	El grupo control no recibió placebo	Los pacientes conocían el tratamiento
Tomado de Rangel Huerta OD et al <sup>15</sup>						

AGP: Ácidos grasos poliinsaturados AINE: antiinflamatorios no esteroideos

DHA: Ácido docosahexaenoico EPA: Ácido eicosapentaenoico

**Tabla 13.** Resumen de la revisión sistemática de los estudios relacionados con los AGP

Autor	Diseño	Tamaño de la muestra (n)	Dosis de EPA+ DHA (g/día)	Duración (semanas)	Placebo	Comentarios
Kremer JM y col., (1985)	Paralelo;2 brazos	Control: 25 (21completaron) $\omega$ -3: 27 (23 completaron; sólo se analizaron los datos de 17 debido a falta de apego)	1,8+1,2	12	Aceite de parafina	
Kremer JM y col., (1987)	Aleatorio cruzado (4 de semanas lavado)	40 (33 completaron las dos partes del estudio)	2,7+1,8	14	Aceite de oliva	
Belch JJ y col., (1988)	Paralelo; 3 brazos	Control: 18 (8 completaron) $\Omega$ -3(+ácido linolénico): 15 (13 completaron) Ácido linolénico: 16(13 completaron)	0,24 (DHA no especificado) +0,54 de ácido linolénico	52(+12en el grupo placebo)	Aceite de parafina	Los pacientes solicitaron reducir el tratamiento con AINE
Cleland LG y col., (1988)	paralelo;2 brazos	Control: 30 (23completaron) $\omega$ 3: 30 (23completaron)	3,2+2,0	12	Aceite de oliva	
Magaro M y col., (1988)	Paralelo;2 brazos	12; la distribución en los grupos no está especificada	1,6+1,1	4	El grupo de control no recibió placebo	No fue controlado de forma apropiada; el tratamiento no fue ciego; no se menciona el número de bajas ni pacientes que completaron el estudio
Van der Tempel H y col., (1990)	Aleatorizado; cruzado (no hubo período de lavado)	16 (14 completaron)	2,0+1,3	12	Aceite de coco	

**Tabla 13.** Resumen de la revisión sistemática de los estudios relacionados con los AGP (**Continuación**)

Autor,	Diseño	Tamaño de la muestra (n)	Dosis de EPA+ DHA (g/día)	Duración (semanas)	Placebo	Comentarios
Kremer JM y col., (1995)	Paralelo;3 brazos	Control: 20 (12 completaron) Dosis baja de $\omega$ -3: 20 (20completaron) Dosis alta de $\omega$ -3: 20 (17completaron)	1,7+1,2 3,5+2,4	24	Aceite de oliva	
Tulleken JE y col., (1990)	Paralelo; 3 brazos	Control: 14 (14-completaron) $\omega$ -3: 14 (13completaron)	2,0+1,3	12	Aceite de Coco	
Sködstam L y col., (1992)	Paralelo; 2 brazos	Control: 23 (21 completaron) $\omega$ -3: 23 (22completaron)	1,8+1,2	24	Mezcla de aceites	
Esperson GT y col., (1992)	Paralelo; 2 brazos	Control: 14 $\omega$ -3: 18	2,0+1,2	12	Mezcla de aceites	

AGP: Ácidos grasos poliinsaturados DHA: Ácido docosahexaenoico EPA: Ácido eicosapentaenoico

**Tabla 14.** Resumen revisión sistemática de estudios relacionados con la inmunidad

Autor	Diseño	Tamaño de la muestra (n)	Dosis de EPA+DHA (g/día)	Duración (semanas)	Placebo	Comentarios
Nielsen GI y col., (1992)	Paralelo; 2brazos	Control: 28 (24-completaron) $\omega$ 3: 29 (27 completaron)	2,0+1,2	12	Aceite vegetal	
Kjeldsen- Kragh J y col., (1992)	Paralelo; 3 brazos	Disminución de AINE+control: 28(24comple-taron) AINE+ $\omega$ 3: 25(20-completaron) Disminución de AINE+ $\omega$ 3: 26 (23 completaron)	3,8+2,0	16	Aceite de maiz	Los pacientes solicitaron reducir el tratamiento con AINE
Lau CS y col., (1993)	Paralelo; 2 brazos	Control: 32 (no especifican el número que completaron el estudio) $\omega$ -3: 32 (no especifican el número que completaron el estudio)	1,7+1,1	52	Aire	Los pacientes solicitaron reducir el tratamiento con AINE
Geusens P y col., (1994)	Paralelo; 3 brazos	Control: 30 (20 completaron) Dosis baja $\omega$ 3: 30 (21completa-ron) Dosis alta $\omega$ 3: 30 (19 completaron)	0,85+ 0,2 1,7+0,4	52	Aceite de oliva	
Kremer JM y col., (1995)	Paralelo; 2 brazos	Control: 33 (26 completaron) $\omega$ 3: 33 (23completa-ron)	4,6+2,5	De 26 a 30	Aceite de maiz	
Volker D y col., (2000)	Paralelo; 2brazos	Control: 25 (13 completaron) $\omega$ 3: 25 (13completa-ron)	Total 40mg/Kg peso (de 2,2 a 3,0)	15	Mezclas de aceites	
Adam O y col., (2003)	Aleato-rio, cruzado (8 semanas de lavado)	Diseño cruzado: control frente a $\omega$ -3 cada uno frente al antecedente de dieta occidental (34; 30comple-taron) o “dieta antiinflamato-ria” (34; 30 completaron) en orden aleatorio	Aproximada-mente 2,4+1,8	12	Aceite de maiz	

**Tabla 14.** Resumen revisión sistemática de estudios relacionados con la inmunidad (Continuación)

Autor	Diseño	Tamaño de la muestra (n)	Dosis de EPA+DHA (g/día)	Duración (semanas)	Placebo	Comentarios
Remans PH y col., (2004)	Paralelo; 2 brazos	Control: 33 (29 completaron) $\omega$ 3: 33 (26completa-ron) Control: 23 (13completa-ron)	1,4+0,2 (+0,5g de ácido linolénico) en un suplemento líquido, en que se agregaron vitaminas, minerales, aminoácidos y otros nutrientes	16	Suplemen-to líquido sin AGPI añadidos	
Sundrarjun T y col., (2004)	Paralelo; 2 brazos	$\omega$ -3: 23 (13 completaron) control: 17 (13 completaron)	1,9+1,5	24	No estable-cido	
Berbert AA y col., (2005)	Paralelo; 3brazos	$\omega$ 3: 18 (13 completaron) $\omega$ -3+aceite de oliva: 20 (17 completaron) Control: 48(26 completaron)	Total: 3,0,	24	Aceite de soja	Algunos pacientes pueden no haber seguido el tratamiento ciego
Galarraga B y col., (2008)	Paralelo; 2 brazos	$\omega$ -3: 49 (32 completaron) Diseño cruzado (55;21 completaron)	1,5+0,7	36	Aire	Los pacientes solicitaron reducir el tratamiento con AINE
Dawczynski C y col., (2009)	Aleatorio cruzado (8 semanas de lavado)	Control: 100 (91 completa-ron)	0,7+0,4 mediante alimentos modificados	12	Alimenta-ción normal	
Das Gupta AB y col., (2000)	Paralelo; 2 brazos	$\omega$ -3:100 (90 completaron)	No especifica-do	12	El grupo control no recibió placebo	Los pacientes conocían el tratamiento

AGP: Ácidos grasos poliinsaturados DHA: Ácido docosahexaenoico EPA:Ácido eicosapentaenoico



**Tabla 15.** Efecto de lácteos enriquecidos sobre marcadores de la inflamación

Diseño de los estudios	Grupos de ensayo <sup>14</sup>	Ingesta diaria de nutrientes a partir de productos lácteos	Duración de la intervención de las leches enriquecidas con AGPI $\omega$ -3 y/o ácido oleico
RCT cruzado (Estévez-González MD y col., 1998)	GC: leche entera	500mL/día Grasa total:16g, de los cuales; AGS: 10,7g; AGMI: 4,8g y AGPI: 0,48g	14 meses
	GS: leche enriquecida con ácido oleico y AGPI	Por 500mL (ingesta diaria) Grasa total: 16g de los cuales, AGS: 2,4g; AGMI: 11,2g; AGPI: 2,4g	14 meses
nRCT (Visioli F y col., 2000)	GC: leche semidesnatada	500mL/día de leche semidesnatada estándar (1,7g/día de grasa /100mL), que aportaba 8,5g de grasa total diaria	4 semanas
	GS: grupo suplementado que consumió el lácteo enriquecido	500mL/día de una leche desnatada enriquecida con EPA, DHA, $\alpha$ -linolénico y vit E (1,7g grasa/100mL) que aportaba grasa total:8,5g; ácidos grasos $\omega$ -3: 0,4g, de los cuales; $\alpha$ -linolénico: 100mg; DHA: 180mg; EPA: 120mg, y vitamina E: 15mg	6 semanas
nRCT (Baró L y col., 2003)	GC: leche semidesnatada	500mL/día de leche desnatada (1,9g de grasa láctea/100mL) que contenía 8,5g de grasa láctea que aportaba: AGS: 6,7g; ácido oleico: 1,82g; AGPI:0,22g y EPA o DHA:0g	4 semanas
	GS: lácteo enriquecido	500mL/día de leche desnatada enriquecida con EPA+DHA, ácido oleico y vitaminas (1,9g de grasa/100mL) que aportaba: AGS: 2,25g; ácido oleico: 5,12g; AGPI: 1,85g; DHA: 200mg, y EPA: 130mg	8 semanas
nRCT (Carrero JJ y col., 2004)	GC: leche semidesnatada	500mL/día de leche igual que en nRCT	4 semanas
	GS: lácteo enriquecido	500mL/día de lácteo igual que en nRCT	8 semanas
RCT (Carrero JJ y col., 2005)	GC: leche semidesnatada	500mL/día igual que en nRCT	12 meses
	GS: lácteo enriquecido	500mL/día igual que en nRCT, que en este caso administraba EPA: 200mg y DHA: 130mg	12 meses

**Tabla 15.** Efecto de lácteos enriquecidos sobre marcadores de la inflamación **(Continuación)**

Diseño de los estudios	Grupos de ensayo <sup>14</sup>	Ingesta diaria de nutrientes a partir de productos lácteos	Duración de la intervención de las leches enriquecidas con AGPI $\omega$ -3 y/o ácido oleico
RCT (Benito P y col., 2006)	GC: leche semidesnatada	500mL/día (1,9g/día de grasa/100mL) que aportaba: AGS: 6,7g; ácido oleico: 1,85g; AGPI: 0,22g, y sin EPA ni DHA	3 meses
	GS: lácteo enriquecido	500mL/día de leche desnatada enriquecida con EPA+DHA, ácido oleico y vitaminas (1,9g de grasa/100mL) que aportaba : AGS: 2,8g; ácido oleico: 5,7g; EPA: 15mg, y DHA: 171mg	3 meses
RCT Carrero JJ y col., (2007)	GC: leche semidesnatada	500mL/día, igual que en RCT	12 meses
	GS: lácteo enriquecido	500mL/día, igual que en RCT	12 meses
RCT Fonollá J y col., (2009)	GC 1: leche semidesnatada	Por 500 mL (ingesta diaria): AGS: 6,7g; ácido oleico: 1,82g; AGPI: 0,22g, y EPA+DHA: 0	1 año
	GC2: leche desnatada	Por 500 mL (ingesta diaria): AGS: 0,21g; ácido oleico: 0,06g; AGPI: 6,9mg, y EPA+DHA: 0	1 año
	GS: lácteo enriquecido	Por 500mL (ingesta diaria): AGS: 2,25g; ácido oleico: 5,12g; AGPI: 1,85g; EPA+DHA: 130mg	1 año
RCT Castro IA y col., (2007)	Intervención 1: "control" lácteo enriquecido con maltodextrina y aceite de soja	Grasa total: 3g; AGS: 1,36g; AGMI: 0,88g; AGPI: 0,8g y EPA+DHA: 0 Fibra insoluble: 1,16g Fibra soluble: 0,16g	6 semanas
	Intervención 2: Lácteo enriquecido con $\omega$ -3	Grasa total: 3,44g; AGS: 1,84g; AGMI: 1g; AGPI: 0,8g, y EPA+DHA: 0,4g Fibra insoluble: 3,24g Fibra soluble: 0,2g	6 semanas
	Intervención 3: lácteo enriquecido con fibra	Grasa total: 3,65g; AGS: 1,56g; AGMI: 1,04g; AGPI: 0,96g; EPA+DHA: 0g Fibra insoluble: 1,32g Fibra soluble: 0,52g	6 semanas
	Intervención 4: lácteo enriquecido con $\omega$ -3 y fibra	Grasa total: 3,24g; AGS: 1,68g; AGMI: 1g; AGPI: 0,56g; EPA+DHA: 0,36g Fibra insoluble: 3,24g Fibra soluble: 0,64g	6 semanas

En la **Tabla 15** resumimos diferentes estudios con leches enriquecidas y sus resultados.

Estudios como el de Baró y colaboradores realizados con individuos sanos con edades comprendidas entre 25 y 45 años (n=30), los cuales consumieron en primer lugar 500mL/día de leche semidesnatada durante 4 semanas y posteriormente durante 8 semanas más una bebida láctea enriquecida con EPA y DHA, concluyeron que la bebida láctea enriquecida originó incrementos en plasma de EPA (48%) y DHA (50%) al final del estudio, además la concentración de LDL-colesterol disminuyó un 20% y el CT un 7%, mientras que TG y HDL-colesterol no se modificaron (Baró L y col., 2003), otros resultados en dicho estudio fueron la reducción de los niveles plasmáticos de homocisteína total el cual también es un factor de riesgo independiente de ECV, que puede reducirse con la ingesta de vitaminas B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> y ácido fólico (presentes en la leche enriquecida). Otros datos de interés fueron la reducción de los niveles plasmáticos de la forma soluble de VCAM-1 (molécula de adhesión de endotelio vascular 1) que desempeña un papel importante en las primeras etapas de la aterosclerosis.

Existen otros estudios como el de Carrero y colaboradores en los que la población estaba comprendida entre los 45 y 65 años (n=30) con hiperlipemia moderada pero sin factores de riesgo adicionales en el que se estudia los efectos de una bebida láctea enriquecida sobre los lípidos basales elevados, en este caso el consumo de leche enriquecida aumentó las concentraciones plasmáticas de EPA el 33% y de DHA el 20% y se observaron reducciones de CT (9%), LDL-colesterol (13%), triglicéridos (24%), homocisteína total (20%) y VCAM-1, esta reducción se produjo de forma progresiva hasta que se alcanzan valores dentro de la normalidad al final del periodo de 8 semanas del estudio, la mayor reducción se produce al cabo de 4 semanas que es cuando los lípidos sanguíneos estaban más elevados.

## **2. HIPOTESIS**



## 2. Hipótesis

En la actualidad existe consenso sobre la importancia de la dieta y el estilo de vida en la prevención y tratamiento de muchos procesos patológicos. Este aspecto adquiere aún más entidad en la enfermedad celiaca, donde existe clara evidencia de que su único tratamiento reside en la dieta. Esta enfermedad tiene una base inmunológica, donde se exageran procesos inflamatorios y en la que suceden cambios en numerosos mediadores químicos. Además la eliminación de ciertos alimentos conlleva modificar la dieta y los perfiles de macro y micronutrientes, situación que puede incrementar el riesgo de otras patologías. Es por ello que deba plantearse una nutrición personalizada y de precisión, donde además de evitar el aporte de alimentos con gluten se busque incorporar alimentos que contengan nutrientes y compuestos bioactivos que ayuden a paliar las deficiencias nutricionales y mejoren el estatus fisiológico y nutricional de los pacientes celíacos.

Por ello en esta Tesis doctoral se plantea la siguiente hipótesis: El consumo diario de al menos medio litro de un lácteo enriquecido en ácidos grasos de la familia omega-3 y en ácido fólico mejora el estatus nutricional, el perfil de ácidos grasos y lipoproteínas séricas, marcadores inflamatorios y las concentraciones de homocisteína en paciente celíacos. Esto confiere a dicho lácteo características de alimento funcional con especial relevancia para el tratamiento paliativo de la enfermedad celiaca.

### 2.1 Objetivos

Respondiendo a la hipótesis planteada esta Memoria de Tesis Doctoral tiene como **objetivo prioritario** estudiar en pacientes diagnosticados de enfermedad celiaca el efecto del consumo de un lácteo funcional con contenido graso reducido (leche semidesnatada) enriquecido en ácidos grasos omega-3 y ácido fólico sobre diferentes marcadores de daño de la mucosa intestinal e inflamación. Este objetivo se plantea teniendo en cuenta las directrices de la SENC, ILSI Europa y de la FDA (Sánchez-Muniz y Bastida, 2013; Howlett, 2008; FAO/WHO, 2010) sobre consumo ácidos grasos omega-3 para mejorar el perfil graso de la dieta, los marcadores de inflamación y el riesgo cardiovascular.

Este objetivo general se aborda a través de los siguientes **objetivos específicos**:

1. Estudiar la aceptabilidad y viabilidad a largo plazo del consumo de dichas leches enriquecidas en pacientes celíacos que participan voluntariamente en un estudio doble ciego, aleatorizado y controlado.
2. Conocer en una muestra de voluntarios celíacos el posible beneficio que el consumo de este lácteo durante seis meses proporciona al estatus nutricional, funcionalidad hepática, y al perfil inflamatorio, glucémico, lipoproteico y al riesgo cardiovascular.

Estos dos objetivos se abordan a través de cubrir otros objetivos más concretos que se plantean en el total de los voluntarios.

- a) Conocer si el consumo del lácteo enriquecido afecta de forma global, y según lo esperado a la calidad de la dieta.
- b) Estudiar si la ingesta de tales preparados lácteos afecta a la concentración en suero de los diferentes ácidos grasos, en particular a la concentración de ácidos grasos de la familia omega-3.
- c) Evaluar los efectos del consumo a largo plazo de esta leche enriquecida sobre los niveles de marcadores de funcionalidad hepática (transaminasas, fosfatasa alcalina)
- d) Conocer los beneficios derivados del consumo de tales productos lácteos sobre marcadores de inflamación (PCR, TNF alfa, IL) y de daño de la mucosa intestinal (título de anticuerpos antiendomiso y antitransglutaminasa).

- e) Valorar la incidencia del consumo de dicho alimento potencialmente funcional sobre los niveles de células y elementos formes sanguíneos (eritrocitos, tipos de leucocitos, plaquetas) y proteínas sanguíneas (albúmina).
- f) Discernir los efectos de la ingesta de tales preparados lácteos sobre marcadores de riesgo cardiovascular: lípidos, lipoproteínas, cocientes de riesgo y homocisteína y glucosa.

..      **3. MATERIAL Y MÉTODOS**





### 3. Material y Métodos

#### 3.1. Selección del Centro.

El estudio se realizó en el Servicio de Digestivo del Hospital Virgen de la Salud de Toledo, dependiente del Servicio de Castilla-La Mancha de Salud. Es un hospital de 650 camas y está catalogado por el Sistema Nacional de Salud como Hospital Tipo III. El Área de Toledo atiende a una población aproximada de 300.000 habitantes de Toledo Capital, La Sagra, montes de Toledo, zona de Torrijos, etc.

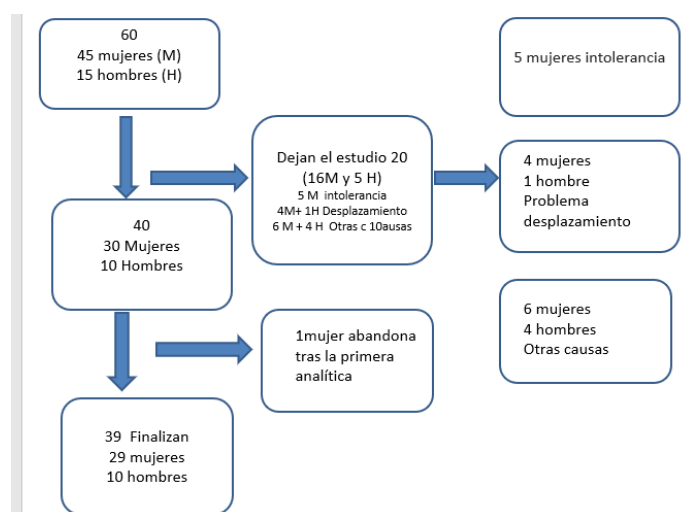
Este hospital se seleccionó por la buena acogida que tuvo el planteamiento del estudio por parte de los Servicios de Análisis Clínicos y de Digestivo y por el Servicio de Digestivo del Hospital Virgen de la Salud hacía el seguimiento de pacientes celiacos y registraba nuevos casos de celiaquía. Tras diferentes reuniones, se optó por realizar el estudio en población ya diagnosticada de enfermedad celiaca, que permitiría programar el inicio del estudio y la toma de muestras en la misma fecha, mientras que el registro de nuevos casos, era imprevisible y en muchos casos más difícil de programar y organizar las citaciones, entrevistas y extracciones de sangre.

#### 3.2. Selección de voluntarios.

El reclutamiento de voluntarios se llevó a cabo con la colaboración de la Asociación de Celiacos de Castilla-La Mancha y el Servicio de Digestivo del Hospital Virgen de la Salud de Toledo.

Los criterios de inclusión en el estudio CIBOM: a) Ser >15 años; b) Estar diagnosticado de enfermedad celiaca (EC); c) llevar una dieta sin gluten (DSG); d) No ser intolerantes a la lactosa y/o tener alergia a la proteína de la leche; d) no tomar suplementos de AGP  $\omega$ -3.

Inicialmente se realizó un sondeo telefónico y presencial de candidatos para participar en el estudio. De las 69 personas que mostraron interés en participar en el estudio, 60 iniciaron el estudio, 42 habían cumplido adecuadamente los 4 primeros meses de estudio y 39 completaron el estudio de seguimiento nutricional y de biomarcadores durante los seis meses que duró el estudio. En la Figura 19 se muestra un esquema donde se resumen el número de candidatos, voluntarios seleccionados, voluntarios que terminan el estudio y las causas de no selección y abandono.



**Figura 19** Esquema resumen población de partida y voluntarios que finalizan el estudio CIBOM

Entre los motivos de no aceptación para participar inicialmente en el estudio o continuar en él fueron: Vivir fuera de la ciudad de Toledo y no poder desplazarse al hospital los días de extracción de sangre, problemas familiares, traslado de residencia, falta de motivación o de adherencia al consumo de leche de vaca; por ingerir sólo un producto lácteo a base de soja, tener ingesta elevada de AGP  $\omega$ -3, o por intolerancia a la lactosa.

Entre los motivos de abandono del estudio se encuentran: traslado de residencia, no gustarle el sabor de la leche a ingerir, haber manifestado algún síntoma no esperado: diarrea o pesadez de estómago.

### 3.3 Diseño del estudio de Intervención

Se diseñó un estudio doble ciego, aleatorizado, en paralelo y controlado de 6 meses de duración. En el diseño del estudio participan miembros del antiguo Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos (Nutrición) de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid que pertenecen al grupo de investigación AFUSAN de la misma Universidad, personal de los Servicios de Digestivo y Análisis Clínicos del Hospital Virgen de la Salud, y personal de la empresa Puleva Food.

Durante un periodo total de seis meses se testó en voluntarios diagnosticados de EC los efectos del consumo de una leche semidesnatada enriquecida en AGP  $\omega$ -3 frente al de otra leche semidesnatada control. Ambas leches procedían de la marca PULEVA y estaban disponibles en el mercado. El estudio recibió el acrónimo de CIBOM, por sus siglas en inglés “The Celiac Inflammatory Biomarkers Omega Milk study”. Los recipientes (tetrabricks) de leche fueron cegados e identificados con etiquetas con las letras A o B. Los resultados se testaron durante tres periodos de dos meses cada uno con la finalidad de conocer los efectos diferenciales del consumo de ambos tipos de leche a corto, medio y largo plazo.

El tamaño muestral se calculó teniendo en cuenta los resultados de otros estudios previos y la variabilidad estadística de dos marcadores “out-comes” que se consideraron centrales para el estudio: LDL y homocisteína. Por ello, el cálculo del tamaño muestral se realizó en base a un valor medio de 140 mg/dL de LDL-colesterol; y de 10  $\mu$ mol/L de homocisteína. Un tamaño muestral de 18 individuos es necesario para obtener una diferencia del 10% en ambos parámetros entre dos visitas consecutivas (pareadas) con una potencia del 90% y un nivel error alfa del 0,05 considerando una desviación estándar del 12% en la medida de LDLc o de homocisteína. La comparación estadística entre los dos grupos de pacientes en un estudio secuencial y de 18-19 individuos para detectar diferencias entre los dos tipos de lácteos con una potencia para los dos biomarcadores del 85%

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética para la Investigación Clínica Hospital Virgen de la Salud de Toledo

Todos los voluntarios, después de recibir información oral y escrita sobre el estudio debían firmar el consentimiento informado, en el que se señalaban los aspectos centrales del estudio, las obligaciones y derechos de los participantes, así como la oportunidad de poder abandonar el estudio en cualquier momento por deseo expreso de los mismos. En los Anexos 1 y 2 de la presente memoria se encuentran la hoja de información y el modelo de consentimiento informado que se entregó a los voluntarios. En el Anexo 3 se presenta la aprobación del Estudio de Intervención por parte del Comité de Ética del Hospital Virgen de la Salud.

Los pacientes fueron distribuidos al azar mediante el uso de tablas de números aleatorios, pudiendo considerarse la distribución equitativa ya que 20 voluntarios recibieron durante los seis meses de tratamiento la leche A y 19 la leche B.

Los voluntarios recibían en su domicilio las leches objeto de estudio cada 4 semanas. Como se describe más adelante los participantes en el estudio fueron citados al inicio y a los

dos, cuatro y seis meses en el hospital para la realización del estudio anamnésico, para conocer la adherencia al tratamiento recabar información nutricional y para la toma de muestra de sangre. Tras la finalización del estudio de intervención y la realización del estudio estadístico dietético, antropométrico y bioquímico, se procedió a abrir las plicas donde se encontraban registradas la información e identificación y caracterización de los leches A y B.

### 3.4 Recogida de datos y toma de muestra

#### Anamnesis.

Previamente al inicio del estudio y tras tener el informe conformado, los voluntarios fueron encuestados y recibieron un cuestionario donde además de cuestiones de rutina sobre edad, sexo, domicilio, estado civil, grado de educación, nivel socioeconómico, antecedentes familiares, tratamiento con fármacos, hábitos tóxicos y actividad física de enfermedad, operaciones quirúrgicas a las que se habían sometido. Se incluían en otro cuestionario diferentes preguntas sobre el peso al nacimiento, lactancia materna o toma de leches de iniciación o continuación, comienzo del consumo de cereales con y sin gluten, zumos, carne, pescado, huevo y leche de vaca. A su vez se les preguntaba por la edad a la que se les había diagnosticado la enfermedad celiaca, y los síntomas asociados en el momento del diagnóstico.

En las visitas al hospital a los 2, 4 y 6 meses se recababa información sobre cualquier anomalía, enfermedad o malestar que hubiera tenido lugar durante el estudio.

#### Medidas antropométricas

Para la talla se utilizó un tallímetro de Holtain (Holtain\* Ltd., Dyfed, UK) con una precisión de hasta 0,2 mm con el sujeto en bipedestación, descalzo y con la espalda en contacto con la superficie del tallímetro. La cabeza se ajustó de modo que una línea horizontal imaginaria pasara por el conducto auditivo y la parte inferior de la órbita del ojo (plano de Frankfurt), estando los pies paralelos y con los tobillos juntos. El peso se midió también con el individuo en bipedestación, descalzo, con poca ropa o ropa interior ligera, utilizando una balanza digital electrónica (SECA\*alpha GmbH & Co., Igny, France; rango 0,1-150Kg precisión 100g). Para calcular el IMC o índice de Quetelet se aplicó la fórmula  $\text{peso/talla}^2$  (m)

**Evaluación dietética y nutricional.** Con el fin de evaluar el consumo de alimentos y, por tanto, la ingesta y el estado nutricional, cada voluntario fue entrevistado por personal entrenado. Se registró tanto la ingesta de alimentos como los hábitos dietéticos en un total de 4 visitas antes y al final de los 2, 4 y 6 meses de estudio. Para ello se les suministró un formulario (**Anexo 5**) donde se les instaba a apuntar el peso y el tamaño y la composición de las raciones consumidas junto con una tabla de medida caseras para ayudar a estimar el tamaño de la porción y los volúmenes consumidos. En cada visita los voluntarios entregaban relleno un registro de 72 horas del consumo de alimentos y bebidas, detallando la hora y la cantidad consumida. El dietista repasaba con el voluntario los datos registrados. Cuando esta información no estaba claramente disponible, se revisaba lo consumido y se comparaba con fotografía de platos ya cocinados o de diferentes alimentos o porciones de la misma (**Anexo 6**).

A partir de los datos de alimentos y bebidas y utilizando el programa Dial de cálculo nutricionales de Ortega y cols. (2004) los alimentos ingeridos se agruparon en cereales, leche, huevos, azúcar, aceites y grasas, verduras, hortalizas, legumbres, frutas, carne y productos cárnicos, pescado, mariscos, bebidas y diversos. Se cuantificaron los siguientes nutrientes: Proteínas, lípidos, hidratos de carbono, fibra, vitaminas B<sub>1</sub>, vitamina B<sub>2</sub>, equivalente de Niacina, vitamina B<sub>6</sub>, folatos, vitamina B<sub>12</sub>, vitamina C, vitamina A, retinol, equivalentes de retinol, vitamina D, vitamina E, biotina, vitamina K, vitamina B<sub>5</sub>, calcio, hierro, yodo, cinc, magnesio, selenio y flúor. Posteriormente se calculó la ingesta de energía y nutrientes por persona y día, así como el perfil energético y graso de cada voluntario y se calculó el porcentaje de las ingestas recomendadas cubiertas por la ingesta. La calidad global de la dieta consumida en los diferentes

periodos se calculó mediante el índice de Alimentación Saludable (IAS) basado en una escala de 100 puntos confeccionada con 10 componentes, cada uno de ellos contribuyendo como máximo de 10 puntos. El IAS y utilizado es una ligera modificación de Norte Navarro y Ortiz Moncada (2011), teniendo en cuenta las ingestas de energía recomendada de 1600; 2200 y 280 kcal (Ortega y cols., 2004; Ortega y cols., 1998) y las porciones requeridas (Ortega y cols., 2004). Las dietas con puntuaciones de IAS <70 fueron etiquetadas de “inadecuadas”, mientras que aquellas con puntuaciones  $\geq 70$  se consideraron “adecuadas” (Norte Navarro y Ortiz Moncada, 2011).

El cumplimiento del protocolo de consumo de leche durante el periodo de intervención se aseguró mediante llamadas frecuentes de teléfono y recolección de los envases vacíos de las leches consumidas.

Dado que el estudio era doble ciego, los aportes de leche control o leche funcional no se diferenciaron en el estudio nutricional en primera instancia considerando su composición y contribución a la dieta como la de la leche semidesnatada control. Una vez conocidas las composiciones de ambas leches, se modificó el aporte dietético de aquellos componentes diferenciales específicos incluidos en la leche (p.ej. folatos, AGP  $\omega$ -3, ácidos eicosapentaenoico (EPA), docosahexaenoico (DHA) y  $\alpha$ -linolénico) y su implicación en la ingesta de los voluntarios seleccionados de forma aleatoria a la leche B o leche funcional. La composición específica de la leches control y funcional (datos por 100 mL) se detalla en la **tabla 16**.

**Tabla 16.** Contenido en energía y nutrientes de las dos leches estudiadas.

	<b>Leche Control</b>	<b>Leche funcional</b>
Energía, kcal	46,5	52
Proteínas, mg/100 mL	3,1	3,5
Carbohidratos, g/100 mL	4,7	5,2
Grasa total, g/100 mL	1,9	1,9
AGS, g/100 g grasa total	70,5	23,7
AGM, g/100 g grasa total	27,2	56,8
PUFA, g/100 g grasa total	2,3	19,5
Ácido Oleico g/100g grasa	21,5	54,4
$\alpha$ -Ácido linolénico g/100g grasa	ND	0,6
EPA U g/100g grasa	ND	1,2
DHA U g/100g grasa	ND	2,1
Calcium, g/110 mL	0,12	0,13
Retinil acetate, $\mu$ g/100 mL	120	132
Colecalciferol, $\mu$ g/100 mL	7.5	7.5
$\alpha$ -Tocoferol acetato, mg/100 mL	ND	1,5
Vitamina B6, mg/100 mL	ND	0,3
Vitamin B12, $\mu$ g/100 mL	0,38	0,38
Ácido fólico, $\mu$ g/100 mL	ND	30

AGM, ácidos grasos monoinsaturados; AGP, ácidos grasos poliinsaturados, AGS, ácidos grasos saturados, ND, no detectado.

#### **3.2.3.4. Obtención y tratamiento de muestras biológicas**

Se procedió a la obtención de sangre venosa en los pacientes tras un periodo de 12 horas de ayuno, mediante punción venosa en la fosa cubital. Las extracciones se llevaron a cabo entre las 8 y 10 horas en el laboratorio de análisis clínicos del Hospital Virgen de la Salud en Toledo. La extracción fue llevada a cabo por personal sanitario. La separación del suero se realizó a 3500

rpm, durante 20 minutos, con centrifugadora de mesa modelo Orto Arlesa Digicen 21 (Toledo, España).

Las determinaciones bioquímicas y el perfil lipídico se hicieron en fresco a partir del suero obtenido en un Autoanalizador de Bioquímica marca Cobas Mira plus de la Roche (Basilea, Suiza). Se utilizaron métodos enzimáticos-colorimétricos con kits de medida de la marca ELITech (Salón de Provence, SES Francia) tanto para la glucosa (Glucose pap SL) como para el colesterol (Cholesterol SL), los niveles de HDL-c (Cholesterol HDL direct) y los TG (Triglycerides). Los valores de LDL-c fueron calculados mediante la fórmula de Friedewald y col (Friedewald WT y col, 1972), excepto para valores de TG mayores de 400 mg/dL que se utilizó el método directo cLDL-plus (Hitachi 917 Roche Diagnostics\*, Basel, Switzerland).

El recuento de eritrocitos, leucocitos, plaquetas y la fórmula leucocitaria Autoanalizador para muestras hematológicas del hospital Virgen de la Salud de Toledo, mientras que la determinación de hematocrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas, ácido úrico y bilirrubina se realizó en un Autoanalizador de Bioquímica marca Cobas Mira plus de la Roche (Basilea, Suiza).

La concentración en ayunas de homocisteína se midió mediante inmunoensayo usando un kit comercial (simulTRAC-SNB Radioassay Kit, ICN pharmaceuticals, Costa Mesa, CA, USA). La concentración de la PCR se determinó en plasma mediante inmunonefelometría con un kit comercial (Dade Behring).

La determinación de ácidos grasos se realizó por cromatografía gaseosa en los laboratorios de Puleva Biotech en Granada) mediante el método de Lepage y Roy (1986) que utiliza un método de transesterificación en metanol-benceno 4:1 eluido con cururo de acetilo, durante 1 h con resultados mejores que los obtenidos al realizar una extracción seguida de transesterificación. La determinación de las interleukinas (IL) se realizó por ELISA (R&D Systems; Quantikine Human Immunoassay. Los niveles de TNF $\alpha$  en suero se determinaron mediante un ensayo inmunoenzimático (ELISA) (Human TNF alpha ELISA, Diaclone, Francia) siguiendo las instrucciones del manual del fabricante en un sistema Roche/Hitachi 904/Model P: ACN 218, Roche.

### **3.2.3.5. Hábitos tóxicos.**

Entre los Hábitos tóxicos se incluyeron el consumo de tabaco, el consumo excesivo de alcohol y la inactividad física. Para establecer los puntos de corte se ha acudido a las publicaciones científicas existentes en los diferentes ámbitos de actuación. No obstante, la disparidad de criterios es amplia, y por lo tanto los puntos de corte elegidos pueden resultar arbitrarios. Así, en los primeros estudios sobre el hábito tabáquico se establecía que por cada 10 cigarrillos diarios consumidos, el incremento de la mortalidad de varones y mujeres aumentaba el 18% y el 31% respectivamente (Kannel WB, 1976). En este estudio se jerarquizó a la población en no fumadores, Exfumadores, fumadores entre 1 y <10 cigarrillos/día, fumadores entre 10 y 19 cigarrillos/día, fumadores de  $\geq 20$  cigarrillos/día y fumadores de otro tipo de tabaco como pipa y cigarros puros.

La relación entre consumo de alcohol y salud se ajusta a una curva en forma de J. De este ajuste se infiere que a partir de una cantidad, se elevan las consecuencias adversas para la salud cuando el hábito persiste. La Organización Mundial de la Salud (OMS) describe como consumo “regular” a ingestas de alcohol entre 20 y 40 g/día en mujeres y de 40 a 60 g/día en varones. No obstante, otras entidades como la SENC, sugieren que el consumo diario de alcohol debe representar menos del 10% de las kcal totales o también ser menor de 20g en la mujer y de 30g en el hombre.

Por último, la definición de sedentarismo está ligada a conductas sedentarias durante el periodo de vigilia que implica estar sentado o recostado y que conllevan una falta de actividad física regular definida como: menos de 30 minutos de ejercicio regular y menos de 3 días a la

semana. Se considera actividad física aquella que suponga un gasto energético mayor de 1.5 veces el gasto energético en reposo (GER), por ejemplo caminar, la limpieza doméstica, jugar al tenis, etc. Una persona es sedentaria cuando su gasto calórico semanal debido a actividad física no supera las 2000 kcal. También lo es aquella que sólo efectúa una actividad semanal de forma no repetitiva, por lo cual las estructuras y funciones de nuestro organismo no se ejercitan ni se estimulan al menos cada dos días como requieren.

### 3.2.3.6. Análisis estadístico

La descripción de los valores cuantitativos se realizó mediante estadísticos descriptivos de base de cálculo y número de valores perdidos, la media, la desviación típica y el intervalo de confianza para la media. También se presentan diversos tipos de figuras (p. ej. histogramas, gráficas de barras, ciclogramas, etc.). Para testar la normalidad de las distribuciones de muestras de menos de 30 casos, se utilizó el test de Shapiro-Wilks y el Kolmogorov-Smirnov.

Las distribuciones de variables categóricas se han descrito por medio de frecuencias absolutas y porcentuales de la distribución. Para detectar relaciones estadísticamente significativas entre las variables, dado que se trata de variables categóricas, se utiliza el test de la Chi-cuadrado, optando por el test exacto de Fisher cuando no se cumplen los supuestos necesarios para usar la Chi-cuadrado

El efecto de los diferentes lácteos en cada periodo de intervención se evaluó mediante la prueba *t* de Student pareada. Las diferencias de cambio (%) [ $100 * (\text{Valor final} - \text{Valor basal}) / \text{Valor basal}$ ] entre periodos se establecieron utilizando el Modelo Lineal General de medidas repetidas (MLG) seguido del análisis *post-hoc* Diferencia Menor Significativa (DMS). La significación se estableció para una probabilidad (*p*) <0,05.

Según el 'Helsinki Heart Study' (Manninen y cols., 1998), un cambio del 10% de LDLc implica una reducción (34%) de la muerte por enfermedad cardíaca. Dado que el estudio tenía como un objetivo primario reducir el riesgo cardiovascular, se eligió como biomarcador más importante el cambio en los niveles de LDL-colesterol. Se calculó que era necesario un tamaño muestral mínimo de 18 individuos para obtener una diferencia del 10% en los valores de LDLc (0,36 mmol/L) entre dos visitas consecutivas con un 90% de potencia estadística y un error alfa de 0,05; considerando una desviación estándar del 12% del valor medio del LDLc. Todos los cálculos estadísticos se realizaron con el paquete estadístico IBM SPSS v. 25.0.

## **4.RESULTADOS**







## REVISIÓN

# Acerca de la enfermedad celiaca. Breve historia de la celiacía

## *Brief history of Coeliac disease*

Ángeles Rodríguez Montealegre, Paloma Celada, Sara Bastida, Francisco J Sánchez-Muniz

*Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España*

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [frasan@ucm.es](mailto:frasan@ucm.es) (Francisco José Sánchez-Muniz).

Recibido el 15 de octubre de 2018; aceptado el 26 de octubre de 2018.

JONNPR. 2018;3(12):980-997  
DOI: 10.19230/jonnpr.2813



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:  
Articles published in this journal are licensed with a:  
Creative Commons Attribution 4.0.  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>  
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,  
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

## Resumen

En este trabajo sobre enfermedad celiaca, los autores se centran fundamentalmente en los aspectos históricos más relevantes que han ido paulatino el conocimiento sobre la enfermedad celiaca. A medida que se han ido conociendo más detalles de la enfermedad a través de sus síntomas se hizo un perfil más riguroso de esta patología. Así, primero se la consideró una indigestión crónica sin relación con el tipo de alimento ingerido, luego se comprobó que se basaba en una intolerancia a la gliadina y a otras proteínas similares para conocer, más tarde que es una enfermedad autoinmune. Se revisan las contribuciones de personajes tan importantes como Areteo de Capadocia, Soriano, Gee, Herter, Dicke, Anderson o Marsh que con sus contribuciones e investigaciones han ayudado de forma indiscutible al conocimiento de los aspectos centrales de la enfermedad celiaca. Este artículo no quiere obviar el trabajo de médicos y científicos españoles entre los que destacan Santiago Cavengt, Manuel Suarez Perdiguero, Ángel Ballabriga, Isabel Polanco ni tampoco la labor ingente de las sociedades de celíacos internacionales y nacionales y del Ministerio de Sanidad y Consumo.

## Palabras clave

*Historia; enfermedad celiaca; hitos destacados*



## Abstract

In this work on celiac disease, the authors focus mainly on the most relevant historical aspects that have been patterning knowledge on celiac disease. Once more details of the disease through their symptoms have been known, a more rigorous profile of this pathology was made. Thus, the Celiac Diseases first was considered a chronic indigestion without relation to the type of food ingested, then it was found that it was based on an intolerance to gliadin and other similar proteins, later that it is an autoimmune disease. The important contributions of Areteo, Soriano, Gee, Herter, Dicke, Anderson, Marsh are reviewed and their contributions and research have helped indisputably the knowledge of the central aspects of the Celiac Disease. This paper does not want to obviate the work of Spanish physicians and researcher as Santiago Cavengt, Ángel Ballabriga, Manuel Suárez Perdiguero, Isabel Polanco nor the work of the international and national Celiacs societies and the Spanish "Ministry of Salud y Consumo".

## Keywords

*History; coeliac disease; highlights*

## Introducción

La enfermedad celíaca (EC) o celiacía es una patología crónica e autoinmune que afecta múltiples órganos, dañando primero el intestino para lesionar posteriormente otras zonas del cuerpo<sup>(1,2)</sup>, especialmente en individuos con una predisposición genética a padecer esta enfermedad. La gravedad de esta patología es dependiente de la edad del paciente y de su situación fisiopatológica<sup>(3,4)</sup>.

La EC se debe a una intolerancia permanente a algunas proteínas que se encuentran en los cereales, principalmente la gliadina y otras proteínas afines, presentes en cereales como el trigo avena, cebada y centeno o cualquiera de sus variedades e híbridos (escanda, espelta, kamut y triticale, entre otros) y productos derivados<sup>(5-7)</sup>. Esta intolerancia genera la atrofia severa de las vellosidades intestinales que, a su vez, produce una grave mala absorción de los nutrientes en el intestino<sup>(4)</sup>.

Pero la EC no solo es una intolerancia alimentaria, es una enfermedad sistémica<sup>(8,9)</sup>. El gluten provoca en los pacientes una respuesta inmunológica anormal generando autoanticuerpos<sup>(10,11)</sup> que pueden atacar a todo el organismo, no solo al intestino<sup>(1,2)</sup>. Cuando la EC no es tratada adecuadamente puede derivar en complicaciones graves como cáncer, trastornos neurológicos y psiquiátricos (denominados neurogluten), enfermedades cardiovasculares y osteoporosis<sup>(4,12-14)</sup>. No obstante, hay casos en los que como en la enfermedad celíaca refractaria, no se consiguen mejorías con el tratamiento con dieta y, además, en situaciones, particularmente en los niños, se puede dar la llamada 'crisis celíaca' que aparece súbitamente y que suele ser mortal<sup>(14)</sup>.



Es la enfermedad crónica intestinal que con más frecuencia aparece en los niños, siendo en la actualidad entre un 1/100-1/150 de la población total. Si bien es verdad que su incidencia ha aumentado en los últimos años, este aumento puede explicarse por el uso de métodos diagnósticos más sensibles que detectan la enfermedad en estadios muy tempranos y/o en fases asintomáticas<sup>(15)</sup>. En cualquier caso, un diagnóstico precoz y un tratamiento correcto son imprescindibles para evitar que la enfermedad produzca efectos graves sobre el organismo.

## Breve revisión histórica

En la historia de la enfermedad pueden considerarse diferentes fases delimitadas por avances en el diagnóstico y en el conocimiento etiopatogénico de la misma<sup>(12)</sup>.

Areteo de Capadocia (Figura 1), médico griego del siglo I d.C. que vivió durante el reinado de Nerón o Vespasiano, es el primero en describir un caso de EC en su tratado "Sobre las causas y los síntomas de las enfermedades" (editado y traducido por Francis Adams en 1856)<sup>(16)</sup>. Por lo tanto, la primera mención a la celiaquía se da en el siglo I d.C.



**Figura 1.** Areteo de Capadocia (Siglo I d.C.)

Areteo en el capítulo 'Diatesis celíaca' de aquel tratado describe la diarrea grasa o esteatorrea como uno de los síntomas de la enfermedad que se da tanto en niños como en adultos, además de otros elementos que suelen acompañarla, como la pérdida de peso y la diarrea crónica reincidente. En otro capítulo del mismo tratado se emplea el término 'celíaco' para calificar a los enfermos que padecen este mal: "si el estómago no retiene los alimentos y pasan a través de él sin ser digeridos, y nada es asimilado por el organismo, denominamos a tales personas como celíacas". Exactamente el vocablo utilizado es la palabra griega *koliakos* que quiere decir 'aquellos que sufren del intestino'.

Areteo también menciona en su tratado, cuando se refiere a la celiaquía, que "el pan es raramente adecuado para proporcionar energía (a los niños celíacos)"<sup>(17)</sup>. De esta observación





se puede colegir que el médico griego ya sospechaba de los efectos adversos del pan sobre los niños intuyendo en gran parte la causa del problema celiaco.

Que Areteo de Capadocia sea el primer médico que hace referencia a la enfermedad celiaca, no parece una casualidad, sino un hecho basado en la probabilística, ya que este médico reside al este de Turquía en un territorio del Oriente Próximo conocido como “Media Luna Fértil” o “Creciente fértil” (Figura 2), ubicado entre los ríos Éufrates y Tigris y el Nilo. En esa zona tiene lugar una gran revolución en la alimentación, condicionada por el cultivo de cereales, que implica un incremento muy marcado en el consumo de granos que contienen gluten, creando las condiciones para la aparición de enfermedades relacionadas con la exposición a sus proteínas.



**Figura 2.** Territorio de la Media Luna Fértil. En esta zona del Oriente Próximo, bien abastecida de agua dulce tuvo lugar, a partir del Neolítico, un desarrollo exponencial de la agricultura. Creado a partir de <http://www.proel.org/img/alfabetos/medorien.gif>

Mucho más tarde, en los albores del siglo XVII, el médico turolense Jerónimo Soriano en su libro *Método y orden de curar las enfermedades de los niños* (Figura 3) afirma, en el capítulo *De la curación de las cámaras*, que existen diferentes tipos de diarreas (llamadas cámaras en ese tratado). Unas son las celiacas, donde “lo que se vacía es con muy poca



alteración o mutación". También reseña que "De todas estas diferencias de cámaras, tratamos largo en el libro de nuestros experimentos médicos. Allí hallarán remedios maravillosos"<sup>(18)</sup>.



**Figura 3.** Método y orden de curar las enfermedades de los niños: Tratado de Jerónimo Soriano (Publicado en 1600).  
<https://www.bing.com/search?q=jeronimo+soriano&src=IE-SearchBox&FORM...>

La EC aparece de nuevo en la bibliografía médica dos siglos después, cuando un médico británico, Samuel Gee (Figura 4), imparte una conferencia en Londres (Gee 1888)<sup>(19,20)</sup> donde señala: "Hay una especie de indigestión crónica que se da en personas de todas las edades, pero que tiene una tendencia especial a afectar a niños de entre uno y cinco años. Los signos de la enfermedad se producen en las heces, que son sueltas, no formadas, pero no líquidas, más voluminosas de lo que los alimentos ingeridos parecían justificar; de color pálido, como si contuvieran bilis; con aspecto de levadura y espuma, probablemente debido a la fermentación, con un hedor con frecuencia muy fuerte, puesto que los alimentos experimentan putrefacción en lugar de digestión"<sup>(20)</sup>.



**Figura 4.** Samuel Gee (1839-1911). Tomada de [https://en.wikipedia.org/wiki/Samuel\\_Gee](https://en.wikipedia.org/wiki/Samuel_Gee)

Por lo tanto, Gee describe la celiaquía como un síndrome de mala absorción intestinal que se desencadena al ingerir algún alimento y sugiere que “si el paciente puede ser curado por completo, debe ser por medio de la dieta”. Aunque acierta al describir la EC se equivoca al recomendar que los pacientes afectados se alimenten con pan “cortado fino y bien tostado por ambos lados”.

Aunque la primera insinuación de relación entre la dermatitis herpetiforme y la enfermedad celíaca no se hace hasta 1955, es en 1884 cuando Louis Dühring describe por primera vez tal afectación cutánea, pero sin relacionarla con la celiaquía, ni separarla claramente de otras enfermedades cutáneas que cursan con ampollas<sup>(20)</sup>.

También en el siglo XIX, Christian Archibald Herter (Figura 5), un pediatra norteamericano, escribe “On infantilism from Chronic Intestinal Infection”. Este médico afirma que “las grasas son mejor toleradas que los hidratos de carbono”, contribuyendo con esta observación en el avance para tratar la EC. Su aportación es tan importante que a esta enfermedad se la llega a llamar la enfermedad de Gee-Herter<sup>(21)</sup>.



**Figura 5.** Christian Archibald Herter (1865-1910). Tomada de:  
[https://en.wikipedia.org/wiki/Christian\\_Archibald\\_Herter\\_\(physician\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Christian_Archibald_Herter_(physician))

Sir George Frederic Still, considerado el padre de la pediatría británica, imparte en 1921 una lección magistral en el Royal College of Physicians, en la que se explaya hablando sobre los efectos perniciosos del pan en la EC. Ese mismo año esta aseveración es desarrollada por John Howland en su discurso "Prolongada intolerancia a los hidratos de carbono" impartido en la American Pediatric Society. Howland resalta la importancia de excluir/reducir los hidratos de carbono en las dietas de los niños celíacos: "Las experiencias clínicas han mostrado que, de todos los elementos de las sustancias nutritivas, los hidratos de carbono son los que deben ser rigurosamente excluidos, una vez estos ampliamente reducidos, los otros elementos son casi siempre bien aceptados teniendo en cuenta que la absorción de las grasas no es tan satisfactoria como en las personas sanas". Asimismo, asevera que la dieta, dividida en tres fases, solo admite la ingesta de hidratos de carbonos en la última de ellas, en la que aconseja, tras observar la capacidad y reacción del intestino, añadir gradualmente los cereales. Howland recalca que el tratamiento es severo pero efectivo a largo plazo<sup>(18)</sup>.

En nuestro país también hubo pediatras que observaron las anomalías digestivas que presentaban algunos de sus pacientes. Uno de los más reconocidos es Santiago Cavengt Gutiérrez (Figura 6).





**Figura 6.** Santiago Cavengt Gutiérrez. Retrato realizado por José Antonio Ávila.  
Tomado de: <https://www.bancodeimagen.es/medicina.com/index.php/banco-deimagenes/retratos/cavengt-gutierrez-santiago-4912>

Este pediatra del Hospital Niño Jesús de Madrid escribe en 1922, *Endocrinología Infantil*; en este libro habla de “los patocativismos infantiles pluriglandulares de origen intestinal”<sup>(22)</sup>. Cuatro años después Cavengt publica en la revista *La Pediatría Española* dos casos de enfermedad celíaca con el nombre de infantilismo digestivo. En este artículo reconoce estar al tanto de los trabajos de Gee, pero habla de conceptos nuevos como la relación de la enfermedad con el metabolismo óseo. Este pediatra español fue el primero en dar a conocer la EC en España. Su interés por esta enfermedad permanece intacto durante varias décadas pues en el año 1950 se lee una comunicación suya en una Reunión de la Sociedad de Pediatría de Madrid, cuyo título es “Consideraciones clínicas sobre la celiaquía”<sup>(23)</sup>.

Posteriormente las reseñas sobre EC no son frecuentes. Tan solo resaltar que en 1935, el catedrático de Pediatría de la Facultad de Medicina de Barcelona Martínez Vargas publica en la revista *La Medicina de los niños* un artículo donde habla de enfermedad celíaca, recogiendo la descripción de Recalde Cuestas y Travella “la mayoría de estos niños son neurópatas, caprichosos, propensos a la cólera, a la inapetencia y a la bulimia”<sup>(18)</sup>.

En 1945, otro profesor universitario y español, Manuel Suárez Perdiguero, realiza un estudio sobre 17 niños celíacos. En las exploraciones comprueba que los pacientes tienen una curva de glucemia plana cuando se realizaba por vía oral y normal por vía endovenosa. Por otra parte, las radiografías del tracto intestinal presentan un tránsito lento de la papilla en el propio intestino delgado, así como unas asas dilatadas y atónicas. Ante estas observaciones, el



doctor Suárez concluye que la enfermedad se debe a una insuficiencia funcional del intestino delgado<sup>(24)</sup>.

Más tarde, en 1950, el médico holandés Willem Karel Dicke (Figura 7), defiende en su tesis doctoral en la universidad de Utrecht, la importancia de eliminar de la dieta de los niños celíacos el trigo, el centeno y la harina de avena, hecho que implica un gran avance en lo referente a una Dieta sin gluten en el tratamiento de la EC.



**Figura 7.** Willem Karel Dicke (1905-1962).

[https://www.google.com/search?q=Willem+Karel+Dicke+fotos+de+libre+acceso&client=firefox-bab&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=2ahUKEwj42cjBp5\\_eAhWj4YUKHcyOA-YQ7Al6BAgGEA0&biw=1920&bih=926](https://www.google.com/search?q=Willem+Karel+Dicke+fotos+de+libre+acceso&client=firefox-bab&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=2ahUKEwj42cjBp5_eAhWj4YUKHcyOA-YQ7Al6BAgGEA0&biw=1920&bih=926)

Dicke observa que la tasa de mortalidad infantil entre los celíacos antes de la Segunda Guerra Mundial era más elevada que durante la misma (pasó del 30-35% a casi el 0%) y lo asocia a que a los niños durante esa guerra se les suministraba en el hospital, diferentes papillas de vegetales, pero raramente con harina de trigo<sup>(20)</sup>. De estos datos intuye que la harina de trigo puede estar relacionada con esa disminución de mortalidad. Basándose en esta intuición realiza un ensayo clínico en un número reducido de niños para demostrar que su teoría es acertada<sup>(25)</sup>. También observa que al reemplazar los alimentos con harina de trigo por otros que contienen harina o almidón de maíz, o harina de arroz, reaparece el apetito en los pacientes y mejora la absorción de grasa, llegando incluso a desaparecer la esteatorrea.

En 1956 se realizan las primeras biopsias intestinales<sup>(26)</sup>, comprobándose posteriormente que el gluten altera la mucosa intestinal de los celíacos, algo que redunda y apoya las tesis de Dicke. Por tanto se puede considerar a Willem Karel Dicke el pionero en la “Dieta sin gluten” de los niños celíacos.



Mientras que Dicke demuestra que una dieta sin gluten es el tratamiento adecuado para la EC, en Norteamérica prefieren seguir las prácticas del doctor Sidney V. Haas y su dieta de las bananas. Esta dieta se basa en reducir el aporte de hidratos de carbono procedentes de alimentos convencionales de los que estarían excluidas las bananas<sup>(27)</sup>. Su tesis se basa en un estudio que realiza en pacientes celíacos a los que somete a una estricta dieta a base de bananas y leche suplementada con gelatina de caldo y un poco de carne. De los diez pacientes tratados, ocho mejoran espectacularmente y Haas publica en 1924<sup>(18)</sup> los resultados atribuyendo todo el mérito a las bananas porque, según él, contienen una enzima especial capaz de hidrolizar el almidón. Si bien, creemos necesario señalar, que la no eliminación de las bananas en la dieta de Haas pudiera deberse también, entre otros aspectos, a la sustitución “económicamente obligada” de alimentos ricos en hidratos de carbono menos asequibles por su alto precio, tras la crisis económica americana, por otros muy habituales y mucho más baratos como las bananas<sup>(28)</sup>. Tampoco puede descartarse, aunque no hay referencia de este hecho, que la inclusión de las bananas se debiera a la observación de una baja incidencia de EC en los consumidores de dichos alimentos.

Pero no solo Haas recomienda el consumo de bananas para combatir la EC. En España, el pediatra Ángel Ballabriga Aguado publica en un artículo que “es más importante la eliminación o restricción al máximo de los hidratos de carbono de la dieta que la eliminación o el dar un régimen pobre en grasa”, aunque la restricción “debe ser para determinados hidratos de carbono”, de hecho, establece que el consumo de hidratos de carbono ha de ser en forma de disacáridos. Propone retirar los cereales de la dieta “con objeto de evitar o reducir al mínimo la fermentación hidrocarbonada, que es causa de distensión abdominal y diarrea” y pondera las bondades de una dieta a base de bananas, algarrobas y babeurre<sup>(29)</sup>.

Por otra parte, en la primera mitad del siglo XX el interés sobre la EC se centra en los niños. Esto se debe a que los niños celíacos, respecto a los adultos, responden más rápidamente, y de forma mucho más espectacular, a los tratamientos dietéticos. Así, los pediatras consiguen mayores logros en el tratamiento de la enfermedad, mientras que los médicos de los adultos conquistan los principales avances en el diagnóstico de la EC. La primera profesora de pediatría en el Reino Unido y pionera en el campo de la gastroenterología pediátrica, fue la australiana Charlotte Anderson<sup>(18,20)</sup>. El equipo de esta pediatra extrae el almidón y otros componentes de la harina de trigo en 1949 y averigua que el contenido de ese extracto es el causante del daño en los enfermos celíacos<sup>(12)</sup>. Con este descubrimiento se refuerza la teoría de Dicke y en 1950 el tratamiento de los pacientes con EC se basa en la “Dieta sin gluten”.

En una publicación de Lancet en 1952, Anderson demuestra que el gluten del trigo y del centeno es la sustancia responsable de los daños en la EC<sup>(30)</sup>. Esta teoría se confirma en 1953 por los holandeses Weijers y Van de Kamer<sup>(20)</sup>.





Así mismo y conjuntamente con el descubrimiento de Dicke, el médico inglés J.W. Paulley de Ipswich comunica a la Sociedad Británica de Gastroenterología en Birmingham la causa del síndrome celíaco. Paulley encuentra una anomalía de la mucosa del intestino delgado en una intervención quirúrgica a un paciente celíaco; dicha anomalía consiste en la inflamación del intestino con pérdida de vellosidades<sup>(31)</sup>. Este proceso inflamatorio, de naturaleza desconocida, se observa en varios pacientes más del doctor inglés y de otros médicos de otros países como Estados Unidos. Con este nuevo dato se obtiene información muy importante para diagnosticar y tratar la EC. Dicha inflamación radica en la pérdida de proyecciones microscópicas o vellosidades. Al ser estas vellosidades las responsables de la absorción de los nutrientes de los alimentos en el intestino para ser trasladados a la corriente sanguínea, su disminución conlleva alteraciones en la digestión en la publicación "Todo sobre la enfermedad celíaca"<sup>(32)</sup>.

En 1962, se descubre que el linfoma de intestino delgado es una consecuencia de la EC. Al día de hoy, se sabe que la EC está detrás de muchos de estos linfomas y otros tipos de cáncer (adenocarcinoma de intestino delgado, linfomas de esófago o de faringe) relacionados directamente con las ulceraciones que se producen en el intestino delgado debidas a la destrucción de las vellosidades intestinales<sup>(33)</sup>.

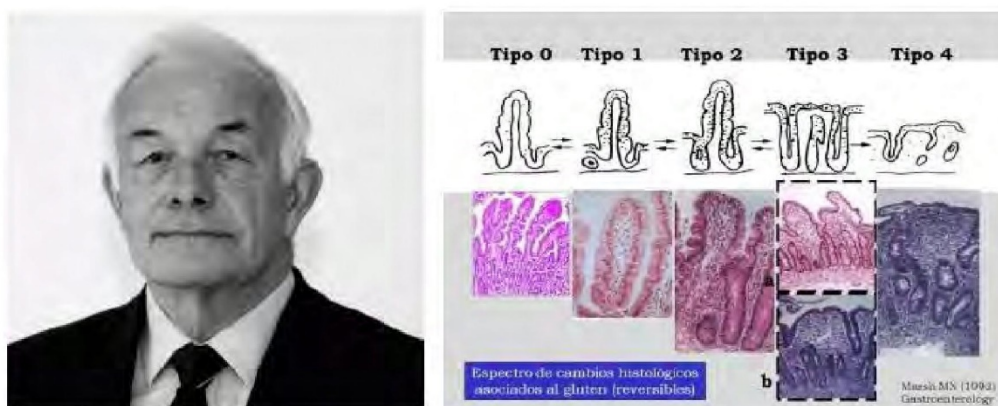
En la década de los años 60 del siglo pasado se observa por primera vez que existe una tendencia a padecer la enfermedad dentro de una misma familia y se inician estudios de marcadores genéticos. Esta 'tendencia familiar' se muestra con especial claridad en gemelos monocigóticos, donde se da una concurrencia del 75%<sup>(34)</sup>. Los primeros estudios en antígenos de leucocitos (antígenos de histocompatibilidad o HLA) sugirieron una relación con HLA B8 y más tarde mostraron una mayor prevalencia de A1 y B8 en celíacos que en controles, lo que evidenció que existe una minoría de celíacos que también tiene dichos HLA<sup>(35-37)</sup>. Los avances en el conocimiento de la genética señalan claramente que existe una asociación primaria entre la celiaquía y algunos haplotipos -conjunto de alelos de riesgos que se heredan juntos y permiten la más fácil identificación de la relación entre mutación y enfermedad-. Así hay una relación primaria entre EC y el heterodímero HLA-DQ a/b codificado por los alelos HLA-DQ2 (DQA1\*0501 y DQB1\*0201). En España y países colindantes el 90% de los pacientes con enfermedad celíaca y el 20% de los individuos sanos presentan dicho haplotipo. Además, la mayoría de los pacientes DQ2 negativos presentan el haplotipo HLA-DQ8 (DQA1\*0301 y DQB1\*0302) (9).

Aunque en 1958 se relaciona por primera vez la EC con una reacción inmunológica al detectar anticuerpos circulantes<sup>(38)</sup>, la relación entre EC y antígenos circulantes específicos no tiene lugar hasta 1983<sup>(39)</sup>. Este hallazgo es crucial para utilizar técnicas de detección no invasivas y menos agresivas que la empleadas hasta entonces. De hecho las pruebas serológicas son de gran utilidad para la identificación de enfermos celíacos, teniendo especial



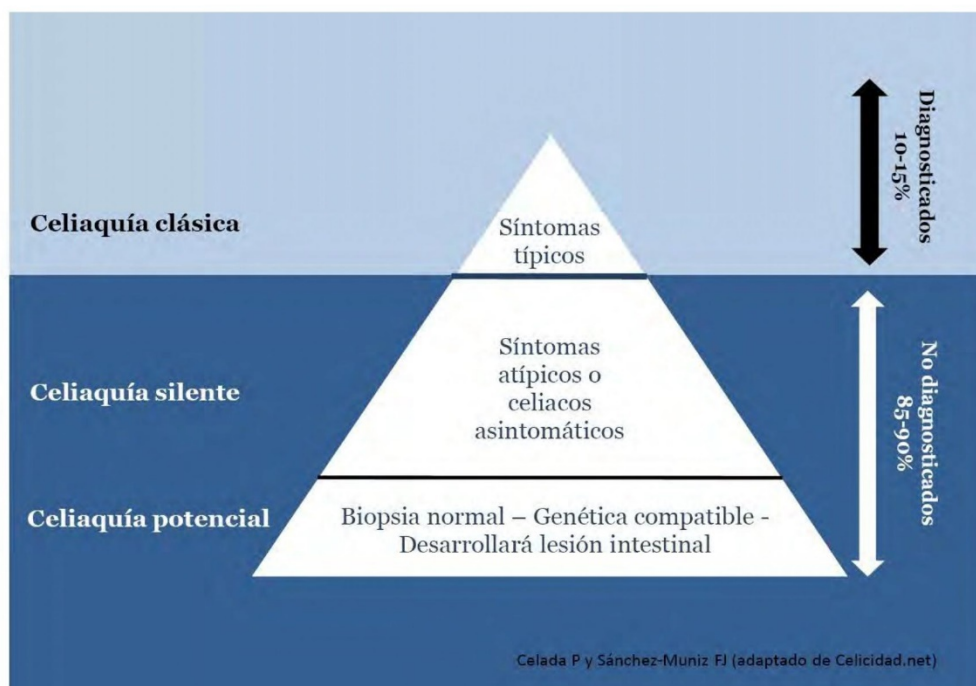
interés la identificación y cuantificación de IgA antiendomiso por ser notablemente sensible (más del 90%) y específica (sobre el 90%) para CD. En 1997 se identifica a la transglutaminasa tisular como el antígeno en el endomisio que actúa como autoantígeno responsable de la CD<sup>(40)</sup>, sin embargo quedan pendiente comprobar la posibilidad de la presencia de falsos positivos en otras lesiones intestinales<sup>(20)</sup>.

En 1992, el profesor Michael N. Marsh de Oxford y sus colaboradores investigan las lesiones duodenales desde un punto de vista histológico (Figura 8). Así establecen cuatro estadios (I a IV o 1 a 4) según la intensidad de la lesión y los daños en el tejido van desde unos cambios mínimos en las vellosidades hasta lesiones que afectan intraepitelialmente<sup>(41)</sup>.



**Figura 8.** Profesor Michael Newton Marsh y la enfermedad celiaca. a) Michael Newton Marsh. Foto de libre acceso; B) Estadios de Marsh dependiendo del grado de lesión de la mucosa intestinal asociados a la ingesta de gluten. 0: Mucosa preinfiltrativa; I: Aumento de Linfocitos intraepiteliales; II: Hiperplasia de las criptas; III a: Atrofia vellositaria parcial; III b: Atrofia vellositaria total; IV: Atrofia vellositaria e hipoplasia críptica.  
<https://www.bing.com/images/search?q=Estadios+de+Marsh+fotos&go=Buscar&q=s&form=QBIDMH>

Paralelamente surge el concepto de 'iceberg de la enfermedad celiaca' (Figura 9). Esta expresión se utiliza para describir, muy gráficamente, la incidencia de la EC, donde la parte visible de ese alegórico iceberg serían los casos de EC diagnosticados donde los síntomas son prueba evidente de que se padece la enfermedad, mientras que la parte no visible del iceberg (y mucho más grande que la visible) serían los casos no diagnosticados donde la enfermedad se muestra silente o simplemente en un estado potencial de desarrollarse. Aunque en el esquema presentamos un iceberg con dos sesiones, se han propuesto diferentes tipos como el de Logan, Catassi, Mäki, Feighery con tres o más sesiones donde se detallan tipos de EC (clásica, silente, etc.,) diagnóstico, síntomas y tratamientos<sup>(20)</sup>.



**Figura 9.** Representación simplista del “Iceberg de la enfermedad celíaca” Modificado de [www.celicidad.net](http://www.celicidad.net) Celicidad APP.

Una muestra evidente de la importancia y de la incidencia de la EC es el interés que están mostrando las autoridades sanitarias en la detección precoz de esta enfermedad, pues un diagnóstico temprano de la celiaquía puede evitar que se desarrollen los aspectos más negativos de esta dolencia.

A este respecto tenemos la obligación de citar que en 1968 se funda la Sociedad Celiaca del Reino Unido (originalmente Sociedad Celiaca) por Elizabeth Segall madre de un niño celíaco y Pedro Benenson, celíaco y uno de los fundadores de la organización de derechos humanos Amnistía Internacional, además el profesor Christopher C. Booth proporciona asesoramiento y asistencia médica inicial a dicha sociedad. En 1969 diversas organizaciones celíacas se establecen en California, Estados Unidos, y poco después en Canadá. Algunos años después se funda la Asociación de Sociedades Celíacas Europeas (AOECS).

El 25 de junio de 1994 se constituye la Federación de Asociaciones de Celíacos de España (FACE). FACE está constituida por 17 asociaciones de celíacos distribuidas por toda la geografía nacional. El objetivo fundamental de la FACE es coordinar el esfuerzo y la labor realizada por los miembros para defender sus derechos, con vistas a la unidad de acción y para un mejor logro de los fines comunes. Esta federación trabaja para mejorar la calidad de





vida de las personas celiacas y conseguir su integración social. Esto lo realiza a través del apoyo directo a las personas celiacas y sus familiares, la realización de campañas de difusión y concienciación, la investigación, y la seguridad alimentaria.

En 2008 el Ministerio de Sanidad y Consumo a través de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) presentan Nuevo Protocolo de Detección Precoz de la Celiaquía<sup>(42)</sup> donde se incluye una guía detallada sobre Diagnóstico Precoz de la Enfermedad Celíaca, editada por la Dra. Polanco<sup>(9)</sup>. Con esta guía se pretende que los profesionales sanitarios estén al tanto de todos los posibles síntomas en que puede mostrarse la celiaquía y así poder detectar más tempranamente esta enfermedad. Un diagnóstico precoz conlleva no solo ventajas para el paciente, lo más importante, sino un ahorro en el gasto sanitario y laboral.

La detección de anticuerpos específicos en sangre en el año 2011 obliga a crear una nueva definición de intolerancia al gluten. En concreto, la presencia de anticuerpos anti-transglutaminasa en sangre es la consecuencia de su aparición previa en la mucosa del intestino, dando lugar a un nuevo método de detección de EC aunque la técnica para detectar este tipo de anticuerpos es sumamente compleja y aún no se la considera una práctica generalizada en clínica<sup>(12,43)</sup>.

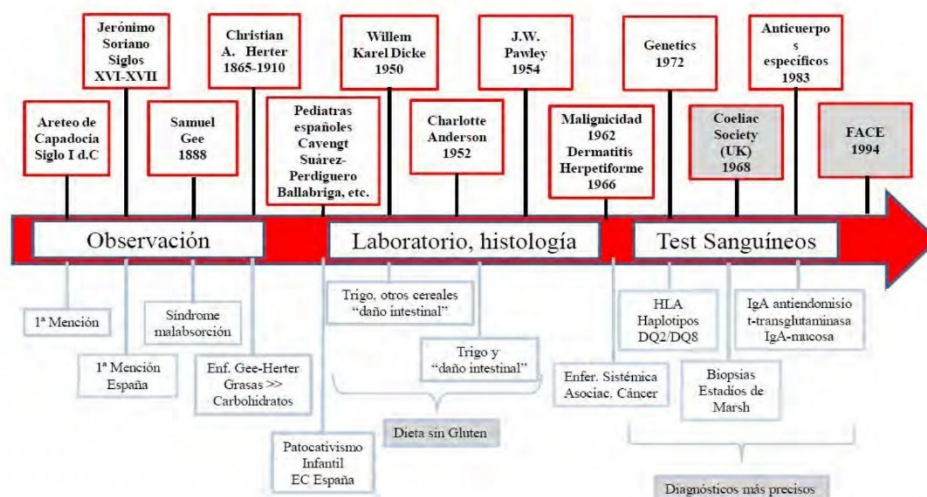
Como se comentó anteriormente, el tratamiento adecuado para la EC es una estricta dieta sin gluten, pero hasta la fecha evaluar el cumplimiento de dicha dieta es complicado pues no hay ningún método fiable que permita saber si la "Dieta sin gluten" se sigue de manera rigurosa. Además muchos clínicos no son partidarios de que se realicen nuevas biopsias para el seguimiento de la enfermedad. Debe recalcar que tanto los cuestionarios rellenados por los propios pacientes, como las biopsias duodenales o la determinación de anticuerpos específicos no aportan una información detallada y por ello no son totalmente precisos para el dicho seguimiento de la "mejoría" de la enfermedad<sup>(43-46)</sup>.

En palabras de Newnham<sup>(46)</sup> *"Una debilidad significativa de todos los estudios clínicos sobre enfermedad celíaca hasta la fecha ha sido la ausencia de una medida objetiva del cumplimiento dietético. Los anticuerpos celíacos, la histología intestinal y los síntomas son todas herramientas imperfectas para la evaluación de la adherencia"*.

Que no existan síntomas digestivos o que no se encuentren anticuerpos específicos no garantiza que la mucosa intestinal se esté recuperando. Además, la evaluación de esta mucosa mediante la técnica invasiva de la biopsia es muy complicada. Y es que la EC puede darse con cambios mínimos que no siempre van acompañados de degeneración de las vellosidades y por tanto son complicados de detectar<sup>(45)</sup>. Sin embargo, y como no podía ser de otra manera, la experimentación continúa y se sigue investigando en nuevos métodos de detección. De hecho, desde el año pasado se dispone de un método de detección de gluten en orina y/o en heces para uso de profesionales y que en el año en curso ya puede adquirirse para uso doméstico<sup>(45)</sup>.



En la Figura 10 hemos resumido el largo camino de la EC, señalando algunos de los personajes e hitos más relevantes. Queda ya muy lejos aquel siglo I d. C cuando Areteo de Capadocia diagnosticó muy básicamente la EC por primera vez, pero gracias a sus observaciones y al trabajo de quienes le sucedieron en el tiempo hoy se conoce mejor esta enfermedad pudiendo detectarla cada vez de manera más precoz, paliando en gran medida sus efectos deletéreos. La batalla contra la EC continúa, y si bien aún no se consigue derrotarla sí se la domina en la mayoría de los casos, consiguiendo una mejor calidad de vida para quienes la padecen.



Francisco J. Sánchez-Muniz  
Hitos más importantes en la Celiaquía

**Figura 10.** Esquema donde se incluyen los personajes e hitos más importantes relacionados con la investigación de la enfermedad celíaca.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado gracias al proyecto del Ministerio de Economía y Competitividad en la convocatoria de Retos Investigación: Proyectos de I+D+i 2014 AGL 2014-53207-C2-2-R.





## Referencias

1. Leffler DA, Green PH, Fasano A. Extraintestinal manifestations of coeliac disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015; 12(10): 561-567.
2. Lundin KE, Wijmenga C. Coeliac disease and autoimmune disease-genetic overlap and screening. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015; 12(9): 507-515.
3. Polanco, I; Larrauri, J. Does transient gluten intolerance exist? En: Kumar PJ, Walker-Simyh JA. (Eds). *Coeliac disease: one hundred years*. Middlesex. Leeds University Press. 1990; pp. 226-230.
4. Troncone, R; Auricchio, S. Coeliac disease. En: Wyllie R, Hyamans SS. (Eds.). *Pediatric gastrointestinal disease*. Filadelfia. Decker 1993; pp. 544-561.
5. Tovoli F, Masi C, Guidetti E, Negrini G, Paterini P, Bolondi L. Clinical and diagnostic aspects of gluten related disorders. *World J Clin Cases*. 2015; 3(3): 275-284.
6. Penagini F, Dilillo D, Meneghin F, Mameli C, Fabiano V, Zuccotti GV. Gluten-free diet in children: an approach to a nutritionally adequate and balanced diet. *Nutrients* 2013; 5(11): 4553-4565.
7. Kupper C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterol*. 2005; 128(4 Suppl 1): S121-S127.
8. Rodrigo L, Garrote JA, Vivas S. Enfermedad Celíaca». *Med Clin (Barc)*. 2008; 131(7): 264-270.
9. Polanco Allué I. (2008). Diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca. Ministerio de Sanidad y Consumo (Ed.) Madrid, España.
10. Ciccocioppo R, Kruzliak P, Cangemi GC, Pohanka M, Betti E, Lauret E, Rodrigo L. The Spectrum of Differences between Childhood and Adulthood Celiac Disease. *Nutrients* 2015; 7(10): 8733-8751.
11. Molberg O, Mcadam SN, Körner R, Quarsten H, Kristiansen C, Madsen L, Fugger L, Scott H, Norén O, Roepstorff P, Lundin KE, Sjöström H, Sollid LM. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nat Med*. 1998; 4(6):713-717.
12. Tommasini A, Not T, Ventura A. Ages of celiac disease: from changing environment to improved diagnostics. *World J Gastroenterol*. 2011; 17(32): 3665-3671
13. Nadhem ON, Azeez G, Smalligan RD, Urban S. Review and practice guidelines for celiac disease in 2014. *Postgrad Med*. 2015; 127(3): 259-265.
14. Woodward J. Improving outcomes of refractory celiac disease - current and emerging treatment strategies. *Clin Experimen Gastroenterol*. 2016; 9: 225-236.
15. Fasano A, Catáis C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001; 120: 636-651.



16. Fasano A. Should we screen for coeliac disease? Yes. *BMJ*. 2009; 339: b3592.
17. García Almeida JM, García Alemán J, Martínez Alfaro B, Vilchez López FJ, Maraver Selfa S. Enfermedad celiaca, dieta controlada en gluten. En: de Luis Román D A, Bellido Guerrero D, García Luna PP. (Eds.). *Dietoterapia, Nutrición Clínica y Metabolismo*. Ed: Díaz de Santos. Madrid. 2012; pp. 247-249.
18. García Nieto VM. Historia de la enfermedad celiaca. En: Rodrigo L, Peña AS. (Eds.). *Enfermedad celiaca y sensibilidad al gluten no celiaca*. OmniaScience. Barcelona, España: 2013; pp. 45-59.
19. Vogten AJ, Peña AS. Coeliac disease: one century after Samuel Gee (1888). *Neth J Med*. 1987; 31(5-6): 253-255.
20. Losowsky MS. A history of coeliac disease. *Dig Dis*. 2008. 26(2); 112-120.
21. <https://www.farodevigo.es/opinion/2013/11/24/enfermedad-celiaca-ayer/920266.html>
22. Cavengt S. Infantilismo o patocativismo. En: *Endocrinología infantil*. Ruiz Hermanos eds. Madrid. 1922; pp. 131-170.
23. Cavengt S. Consideraciones clínicas sobre la celiacquia. *Acta Ped Esp*. 1950; 8: 199.
24. Suárez Perdiguer M. Enfermedad celiaca y síndrome celiaco. Concepto y patogénesis. *Rev Esp Pediatr*. 1945; 1: 683-695.
25. Dicke Wk, Weijers HA, Van De Kamer JH. Coeliac disease. II. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. *Acta Paediatr*. 1953; 42(1): 34-42.
26. Shiner M. Duodenal biopsy. *Lancet* 1956; 1: 17-19.
27. Abel EK. The rise and fall of celiac disease in the United States. *J Hist Med Allied Sci*. 2010; 65(1): 81-105.
28. <https://culturacientifica.com/2015/06/25/celiacquia-platanos-y-golpes-de-estado/>
29. Ballabriga Aguado A. Tratamiento de la enfermedad celiaca con especial consideración a sus aspectos dietéticos. *Acta Ped Esp*. 1949; 7: 1519-1541.
30. Anderson CM, French JM, Sammons HG, Frazer AC, Gerrard JW, Smellie JM. Coeliac disease; gastrointestinal studies and the effect of dietary wheat flour. *Lancet* 1952; 1(17): 836-842.
31. Paulley JW Observation on the aetiology of idiopathic steatorrhoea; jejunal and lymphnode biopsies. *Br Med J*. 1954; 2(4900): 1318-1321.
32. Márquez Infante M. Historia de la enfermedad celiaca. En: *Asociación de Celíacos de Madrid. Consejería de Sanidad y Consumo. Todo sobre la enfermedad celiaca*. 2008 [www.celiacosmadrid.org](http://www.celiacosmadrid.org)
33. Catassi C, Bearzi I, Holmes GK. Association of celiac disease and intestinal lymphomas and other cancers. *Gastroenterology* 2005; 128(4 Suppl 1): S79-S86.



34. Ellis J: Coeliac disease and other gluten-sensitive disorders. En: Buttriss J (ed): Adverse Reactions to Food. Blackwell Science, London. 2002; pp 112–130.
35. Falchuk ZM, Rogentine GN, Strober W: Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. *J Clin Invest.* 1972; 51: 1602–1605.
36. Stokes PL, Asquith P, Holmes GK, Mackintosh P, Cooke WT. Histocompatibility antigens associated with adult coeliac disease. *Lancet* 1972; 2: 162–164.
37. Granditsch G, Ludwig H, Polymenidis Z, Wick G. Letter: Coeliac disease and HL-A8. *Lancet* 1973; 2(7834): 908-909.
38. Berger E: Allergic pathogenesis of celiac disease with studies of the splitting up of pathogenic antigens by enzymes. *Bibl Paediatr.* 1958; 67: 1–55.
39. Chorzelski TP, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Beutner EH, Kumar V. IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and celiac disease. *Ann NY Acad Sci.* 1983; 420: 325–334.
40. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med.* 1997; 3: 797–801.
41. March MN. Gluten sensitivity and latency: can patterns of intestinal antibody secretion define the great 'silent majority?'. *Gastroenterology.* 1993; 104(5):1550-
42. Ministerio de Sanidad y Política Social. Nuevo protocolo de detección precoz de la celiaquía. Boletín impacto. DG Agencia de Calidad del SNS. Marzo 2018.
43. Molina-Infante J, Santolaria S, Sanders DS, Fernández-Bañares F. Systematic review: noncoeliac gluten sensitivity. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015; 41(9): 807-820.
44. Moreno ML, Rodríguez-Herrera A, Sousa C, Comino I. Biomarkers to monitor gluten-free diet compliance in celiac patients. *Nutrients* 2017; 6(9): 1.
45. Syage JA, Kelly CP, Dickason MA, Ramirez AC, Leon F, Dominguez R, Sealey-Voyksner JA. Determination of gluten consumption in celiac disease patients on a gluten-free diet. *Am J Clin Nutr.* 2018; 107(2): 201-207.
46. Newnham ED. Coeliac disease in the 21st century: paradigm shifts in the modern age. *J Gastroenterol Hepatol.* 2017; 32(Suppl 1): 82-85.

## 4. Resultados

Los resultados de esta memoria de Tesis Doctoral se presentan en forma de tablas y figuras. En primer lugar (**Tablas 17 y 18**) se incluyen algunas características al nacimiento y de la lactancia en la población estudiada y categorizada en mujeres y varones, junto con datos de la edad de diagnóstico y de las principales alteraciones asociadas. Posteriormente se detallan los resultados basales (antes de iniciar el estudio) de edad y marcadores antropométricos y de hábitos tóxicos en varones y mujeres (**Tablas 19 y 20**). Posteriormente se señalan las características basales de la dieta y la prevalencia de sujetos que ingieren niveles adecuados o no de energía y nutrientes y de la calidad de la dieta (**Tablas 21 y 22 y Figuras 21 y 22**). También se muestran los valores basales referentes a los recuentos de células sanguíneas y la fórmula leucocitaria (**Tabla 7**) y de marcadores lipídicos, lipoproteicos, de glucosa y homocisteína (**Tabla 8**), así como la prevalencia de sujetos con niveles alterados de estos marcadores.

Las **tablas 25 y 26 y figura 23** resumen algunos datos al nacimiento y lactancia, así como parámetros antropométricos y de hábitos tóxicos en los sujetos que de forma aleatoria se distribuyeron en los dos grupos, en los que se administró las leches objeto de estudio.

En las **tablas 28 a 44** se detallan los resultados referentes a la ingesta de energía, nutrientes, y calidad de la dieta tanto basal como a los 2, 4 y 6 meses de tratamiento, así como las tasas de cambio observadas en los individuos que consumen la leche control (**leche A**) y la leche experimental (**leche B**). Posteriormente se incluyen las **tablas 29 a 66** donde se resumen los resultados basales y los cambios que ocurren a los 2, 4 y 6 meses de estudio en los ácidos grasos, los marcadores hemáticos, de proteínas sanguíneas, de funcionalidad hepática y del metabolismo lipoproteico, así como las diferencias significativas observadas entre los dos grupos experimentales (Leche A vs. leche B).

Señalar que en la exposición de los resultados, se comentarán las diferencias entre los niveles basales y a los 2 4 y 6 meses entre los voluntarios que reciben las leches experimentales A y B. Posteriormente se indica en la tablas como efecto global la significación entre el cambio en un parámetro dado en términos absolutos, y como tasa de cambio la significación entre el cambio relativo ocurrido en el grupo A respecto al grupo B, junto con el valor y su intervalo de seguridad.

### 4.1 Descripción basal de los pacientes.

Como se comentó en el apartado Material y Métodos se contactó con 60 voluntarios de los cuales 39 completaron el estudio y 21 no lo iniciaron o abandonaron por diferentes causas. Así 7 de ellos señalaron problemas de transporte, ubicación o trabajo para acudir a las citas para realizar las encuestas anamnésticas y las extracciones periódicas que demandaba el estudio. Otros 6 realizaron comentarios (p. ej. la leche experimental A o B no me sienta bien y deseo salir del estudio; no quiero consumir lácteos enriquecidos) o señalaron problemas relacionados con la ingesta de leche o lácteos (p.ej. intolerancia a la lactosa). Por último con 8 de ellos se perdió el contacto de forma definitiva, no respondiendo a los correos electrónicos y llamadas telefónicas que de forma repetida se realizaron, preguntando y controlando la adherencia al consumo de los lácteos experimentales.

#### **Peso al nacimiento, lactancia y diagnóstico de la enfermedad celiaca**

La distribución de la población atendiendo al peso al nacer (**datos no mostrados**) señaló que 3 voluntarios desconocían su peso al nacer. De los 36 restantes, 3 nacieron con un peso menor a 2,5 kg; 29 voluntarios tuvieron un peso en el intervalo de 2,5 a <4,0 kg y 1 solo nació con más de 4 kg.

La **tabla 33** resume algunos aspectos relacionados con el consumo de leche materna o de fórmula así como la duración de la lactancia y la fecha aproximada de la inclusión de cereales con o sin gluten. Aunque

el grado de desinformación es elevado entre los participantes, se observa que un 80% de los participantes recibió lactancia materna desde el momento del nacimiento y aproximadamente un 30% durante los 3 primeros meses, que un 12,8% inició el consumo de cereales sin gluten antes de los 4 meses, y que la mayoría de ellos inició el consumo de cereales con gluten entre 6 y 9 meses.

Respecto a la edad en que la enfermedad celiaca fue diagnosticada la gran mayoría manifiesta que tuvo lugar en el intervalo de 25 a <50 años (**Tabla 18**). Igualmente, casi la mitad mostró varios síntomas seguido de aquellos que tuvieron solo signos digestivos.

**Tabla 17.** Tipo de lactancia y edad en el que se inició el consumo de cereales sin gluten y con gluten en el total de los pacientes celiacos del estudio CIBOM que participaron y completaron el estudio

	N	% del total
<b>Tipo de Lactancia</b>		
Materna	31	79,5
Fórmula de inicio	7	17,9
No sabe	1	2,6
<b>Tiempo Lactancia</b>		
0 - <3 meses	12	30,8
3 - <6 meses	3	7,7
≥6 meses	14	35,9
No sabe	10	25,6
<b>Inicio Cereales Sin gluten</b>		
0 - <4 meses	5	12,8
4 - <6 meses	9	23,1
6 - <9 meses	6	15,4
≥9 meses	1	2,6
No sabe	18	46,1
<b>Inicio Cereales con Gluten</b>		
0 - <4 meses	2	5,1
4 - <6 meses	6	15,4
6 - <9 meses	12	30,8
≥9 meses	3	7,7
No sabe	16	41,0

**Tabla 18.** Edad de diagnóstico de la enfermedad celiaca y síntomas principales de diagnóstico en el total de los pacientes celiacos del estudio CIBOM que participaron y completaron el estudio

Edad Diagnóstico	N	% del total
0 – 15 años	5	12,8
15 – <25 años	12	30,8
25 - <40 años	17	43,6
40 - <50 años	4	10,2
≥50 años	1	2,6
<b>Síntomas de Diagnóstico</b>		
Digestivos	15	38,5
Anemia	3	7,7
Hepáticos	3	7,7
Varios	18	46,1
Asintomáticos	0	0



#### 4.1.1 Datos antropométricos y hábitos tóxicos

En la **tabla 21** se muestra la descripción de los datos antropométricos de los pacientes incluidos en el estudio. Se observan diferencias significativas entre hombres y mujeres para peso ( $p<0,001$ ), talla ( $p<0,001$ ) e índice de masa muscular ( $p<0,05$ ). Como se verá en el apartado de discusión (**Figura A**), un 50% de los varones y un 25% de las mujeres tenía sobrepeso tipo II u obesidad.

Respecto a los hábitos tóxicos (**Tabla 22**) se constata que la prevalencia de fumar y sedentarismo no difirió significativamente entre varones y mujeres ( $p>0,1$ ); sin embargo, el consumo de bebidas alcohólicas (más de tres consumiciones/semana) fue más frecuente en los varones ( $p=0,165$ ).

**Tabla 19.** Edad y parámetros antropométricos iniciales de los pacientes celíacos del estudio CIBOM que participaron y completaron el estudio

	Género	Número	Media $\pm$ SD	Mínimo	Máximo	P Varones vs mujeres
<b>Edad (años)</b>	Varones	10	34,03 $\pm$ 9,99	17	53	0,86 (NS)
	Mujeres	29	34,43 $\pm$ 12,79	15	71	
	Todos	39	34,32 $\pm$ 12,10	15	71	
<b>Peso (kg)</b>	Varones	10	78,76 $\pm$ 12,98	65	103	<0,001
	Mujeres	29	59,33 $\pm$ 9,76	41	84	
	Todos	39	64,32 $\pm$ 13,56			
<b>Talla (m)</b>	Varones	10	1,75 $\pm$ 0,64	1,68	1,87	<0,001
	Mujeres	29	1,61 $\pm$ 0,06	1,45	1,78	
	Todos	39	1,64 $\pm$ 0,09	1,45	1,87	
<b>Índice de masa corporal (kg/m<sup>2</sup>)</b>	Varones	10	25,77 $\pm$ 3,23	22,23	31,79	<0,028
	Mujeres	29	22,99 $\pm$ 3,34	17,47	31,23	
	Todos	39	23,70 $\pm$ 3,49	17-47	31,79	

NS, no significativo

**Tabla 20.** Prevalencia de hábitos tóxicos (fumar, beber, muy baja actividad física) en los pacientes celíacos del estudio CIBOM que participaron y completaron el estudio

	Género	Prevalencia n (%)	P Varones vs. Mujeres
<b>Fumadores</b>	Varones	3 (30)	NS ( $p=0,882$ )
	Mujeres	8 (27,6)	
	Todos	11 (28,2)	
<b>Bebedores (3 bebidas/semana)</b>	Varones	4 (40)	NS ( $p=0,165$ )
	Mujeres	2 (5,1)	
	Todos	6 (15,4)	
<b>Sedentarismo</b>	Varones	4 (40)	NS ( $p=0,934$ )
	Mujeres	11 (37,9)	

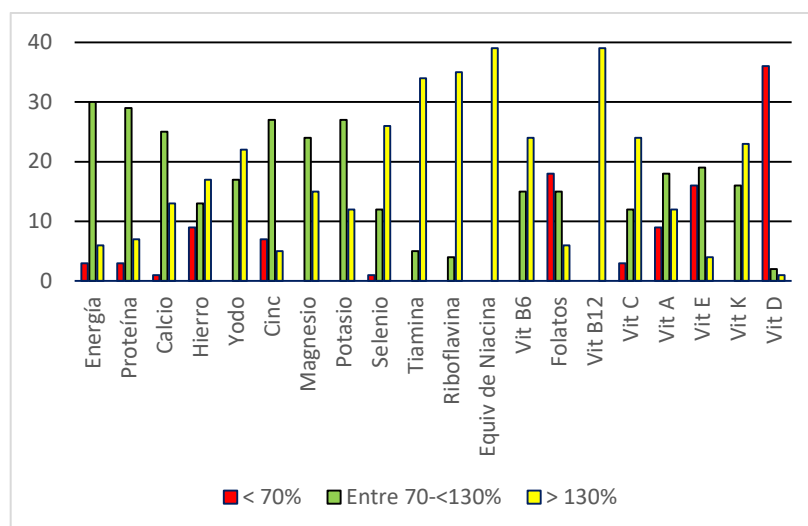
NS, no significativo

En la **tabla 21** se resume información de consumo basal (antes de empezar el estudio) de energía y nutrientes de los 39 voluntarios que completaron el estudio.

**Tabla 21.** Características basales de la dieta de los pacientes celíacos del estudio CIBOM que participaron y completaron el estudio

<b>Energía</b> (kcal/día)	2508,8 ± 840,2
<b>Proteínas</b> (g/día)	117,9 ± 45,4
<b>Grasas</b> (g/día)	126,1 ± 47,6
<b>Hidratos de carbono</b> (g/día)	206,1 ± 73,0
<b>Alcohol</b> (g/día)	2,5 ± 5,3
<b>Fibra</b> (g/día)	25,1 ± 13,3
<b>Calcio</b> (mg/día)	1279,5 ± 307,9
<b>Hierro</b> (mg/día)	19,3 ± 7,4
<b>Iodo</b> (µg/día)	155,3 ± 45,1
<b>Cinc</b> (mg/día)	14,7 ± 4,4
<b>Magnesio</b> (mg/día)	424,1 ± 137,2
<b>Potasio</b> (mg/día)	4286,0 ± 1319,5
<b>Selenio</b> (µg/día)	84,4 ± 28,5
<b>Tiamina</b> (mg/día)	2,3 ± 0,9
<b>Riboflavina</b> (mg/día)	2,8 ± 0,9
<b>Equivalentes de Niacina</b> (mg/día)	43,3 ± 14,6
<b>Vitamina B<sub>6</sub></b> (mg/día)	2,6 ± 0,9
<b>Folatos</b> (µg/día)	327,2 ± 151,3
<b>Vitamina B<sub>12</sub></b> (µg/día)	7,8 ± 4,8
<b>Vitamina C</b> (mg/día)	910,7 ± 392,4
<b>Equivalentes de Retinol</b> (µg/día)	910,7 ± 392,4
<b>Vitamina D</b> (µg/día)	3,5 ± 5,2
<b>Vitamina E</b> (mg/día)	10,3 ± 4,6
<b>Vitamina K</b> (µg/día)	145,4 ± 59,9

La **figura 20** muestra el porcentaje de pacientes en los que las ingestas recomendadas (RDA) de energía, proteína, micronutrientes es cubierta por la ingesta a nivel <70%, entre 70 y 129,9% y ≥130%.



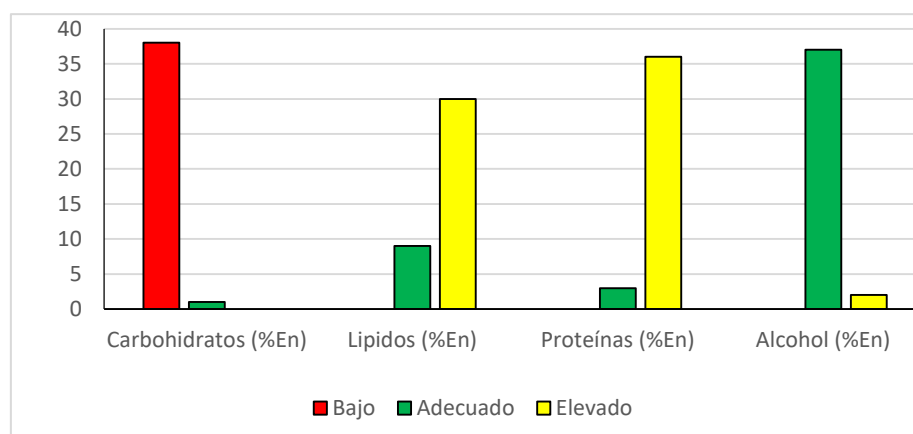
**Figura 20.** Características de la dieta inicial de los voluntarios del estudio CIBOM atendiendo al porcentaje de energía y nutrientes cubierto por la ingesta energética (%RDA)

**Tabla 22.** Perfil calórico, perfil graso e indicadores de calidad de la dieta basal de los pacientes celiacos del estudio CIBOM que completaron el estudio.

	Ingesta	Objetivos Nutricionales*
Ácidos grasos saturados (g/día)	42,0 ± 16,2	
Ácidos grasos monoinsaturados (g/día)	56,0 ± 20,9	
Ácidos grasos poliinsaturados omega-6 (g/día)	18,9 ± 7,9	
Ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (g/día)	3,4 ± 8,1	
EPA + DHA (g/día)	1,4 ± 1,2	
Cociente omega-6/omega-3	6,97 ± 1,5	4
Colesterol (mg/día)	432,7 ± 204,9	<300 mg/día
Fibra dietética (g/1000 kcal)	25,1 ± 13,3	
Alcohol (g/día)	2,5 ± 5,3	V <20g/día M <10 g/día
<b>Perfil calórico</b>		
Proteína (%En)	18,7 ± 2,9	10-12%
Grasa (%En)	44,8 ± 5,3	30-35%
Hidratos de carbono (%En)	35,6 ± 7,3	50-60%
Alcohol (%En)	0,7 ± 1,6	<10%
<b>Perfil graso</b>		
Ácidos grasos saturados (%En)	15,1 ± 2,9	<10%
Ácidos grasos monoinsaturados (%En)	20,0 ± 2,9	15-20%
Ácidos grasos poliinsaturados omega-6 (%En)	6,2 ± 1,3	<10%
Ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (%En)	0,43 ± 0,23	0,5-1%
Índice de alimentación saludable	53,6 ± 10,0	≥70

\*Resultados derivados de diferentes informes (Sánchez-Muniz y Bastida, 2013; SENC, 2004). En la actualidad no hay acuerdo sobre el cociente omega-6/omega-3 pero tradicionalmente se acepta el valor de 4 como más idóneo.

La **tabla 22** informa sobre el perfil calórico y perfil graso de la dieta en la población objeto de estudio, así como de otros indicadores de calidad de la dieta, contenido de fibra/1000 kcal, cociente omega-6/omega 3. También se incluye información sobre el índice de alimentación saludable (IAS). En la **figura 21** se muestra el porcentaje de individuos que presentan un perfil calórico y perfil graso adecuado.



**Figura 21.** Características de la dieta inicial de los voluntarios del estudio CIBOM atendiendo al perfil calórico de las dietas. Se consideró para bajo, adecuado y elevado los siguientes puntos de corte: Hidratos de carbono: <50%En, 50-60%En y >60%); Lípidos (<30%En; 30-40%En y >40%En); proteínas



(<10%En, 10-15%En y >15%En).

**Tabla 23.** Marcadores hemáticos basales de los pacientes celíacos del estudio CIBOM que participaron y completaron el estudio

	<b>Media ± SD</b>	<b>Indicador</b>
Hematíes 10 <sup>6</sup> (células*1000/μL)	4,6 ± 0,5	V 4,5-6 *10 <sup>6</sup> M 4,2-5,4*10 <sup>6</sup>
Hematocrito (%)	42,0 ± 3,8	V 40-50% M 37-47%
Hemoglobina (g/dL)	14,2 ± 1,3	V 14-18 g/dL M 12-16 g/dL
VCM (Femtolitros/hematíe)	91,8 ± 4,0	88-100 fL
HbCM (pg/hematíe)	31,1 ± 1,4	26,3 a 33,8
Leucocitos totales (células/1000/μL)	6,7 ± 1,5	4,5 a 11,0
Neutrófilos (células1000/μL)*	3,7 ± 1,2	2,0-7,5
Linfocitos (células*1000/μL)	2,2 ± 0,6	1,3-4,0
Monocitos (células*1000/μL)	0,56 ± 0,20	0,1-0,8
Eosinófilos (células*1000/μL)	0,18 ± 0,13	0,05-0,5
Basófilos (células*1000/μL)	0,03 ± 0,05	0-0,2
Neutrófilos (%)	55,3 ± 7,9	
Linfocitos (%)	32,9 ± 7,7	
Monocitos (%)	8,3 ± 2,1	
Eosinófilos (%)	2,8 ± 1,8	
Basófilos (%)	0,69 ± 0,38	
Plaquetas (plaquetas*1000/μL)	221,7 ± 50,5	

V, varones; m, mujeres. Fuente: Chemocare.com

Las tablas 23 y 24 señalan los resultados de marcadores hematológicos de rutina y la concentración de lípidos y lipoproteínas de los pacientes, así como la prevalencia de niveles óptimos y elevados en la población objeto de estudio.

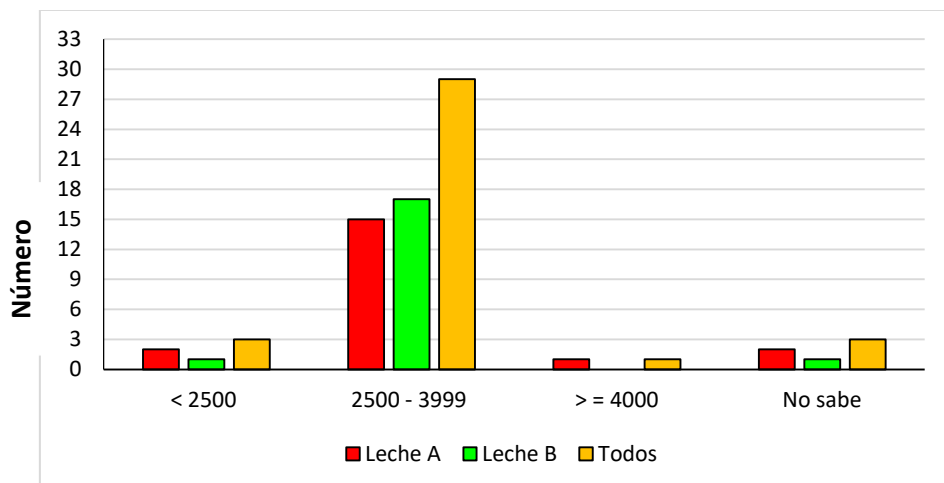
**Tabla 24.** Niveles lipídicos, lipoproteicos, de glucosa y homocisteína de los pacientes celíacos del estudio CIBOM que participaron y completaron el estudio.

	<b>Media ± SD</b>	<b>Nivel de riesgo</b>	<b>n (Prevalencia) de niveles alterados</b>
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>		<b>≥150 mg/dL</b>	
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	<b>185,36 ± 33,01</b>	<b>≥200 mg/dL</b>	<b>12 (30,8%)</b>
<b>LDL-c mg/dL</b>	<b>111,85 ± 32,0</b>	<b>≥110 mg/dL</b>	
<b>HDL-c mg/dL</b>	<b>V: 49,0 ± 10,87</b>	<b>V &lt;40 mg/dL</b>	<b>2 (20% de los V)</b>
	<b>M: 62,62 ± 11,54</b>	<b>M &lt;50 mg/dL</b>	<b>3 (10,3% de las M)</b>
<b>Colesterol/HDLc</b>	<b>3,27 ± 0,88</b>		
<b>LDL-c/HDL-c</b>	<b>2,00 ± 0,76</b>		
<b>Tg/HDLc molar</b>	<b>0,59 ± 0,39</b>	<b>&gt;1,33</b>	<b>0</b>
<b>Glucemia (mg/dL)</b>	<b>91,2 ± 12,0</b>	<b>≥100mg/dL</b>	<b>6 (39%)</b>
<b>Homocisteína (μmol/L)</b>	<b>6,5 ± 2,2</b>	<b>&gt;10 μmol/L</b>	

V, varones; M, mujeres.

### Distribución de los voluntarios en los dos grupos experimentales. Niveles basales y resultados de los efectos de la inclusión de las leches experimentales

La figura 22 muestra información del peso al nacer de los voluntarios que consumieron ambas leches experimentales. No se encontraron diferencias significativas entre los voluntarios de ambos grupos ( $p > 0.05$ ).



**Figura 22.** Distribución de los pacientes del estudio CIBOM que recibieron las leches experimentales según su peso al nacer. Se muestran los valores para niño con bajo peso, normo pesos y peso elevado. No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos ( $p > 0.05$ , Chi cuadrado).

Así en la **tabla 25** se resumen algunos aspectos relacionados con el consumo de leche materna o de fórmula, la duración de la lactancia y la fecha aproximada de la inclusión de cereales con o sin gluten. El porcentaje participantes que tuvieron o no lactancia materna no difirió significativamente entre los pacientes de ambos grupos. Tampoco se encontraron diferencias debidas tipo de leche en la introducción de cereales con o sin gluten. La **tabla 26** indica que la edad del diagnóstico de enfermedad celiaca tendió a ser más elevada en los voluntarios que tomaron la leche A ( $P=0,083$ ).

**Tabla 25.** Tipo de lactancia y edad en la que se inició el consumo de cereales sin gluten y con gluten en los voluntarios del estudio CIBOM

	Tipo de Leche	N	%	Significación leche A vs B
<b>Tipo de lactancia</b>				NS ( $p=0,732$ )
<b>Leche materna</b>	Leche A	15	35,5	
	Leche B	16	38,5	
<b>Fórmula de inicio</b>	Leche A	4	10,2	
	Leche B	3	7,7	
<b>Tiempo Lactancia</b>				NS ( $p=0,211$ )
<b>0 - &lt;3 meses</b>	Leche A	7	17,9	
	Leche B	5	12,8	
<b>3 - &lt;6 meses</b>	Leche A	2	5,1	
	Leche B	1	2,6	
<b>6 - &lt;9 meses</b>	Leche A	2	5,1	
	Leche B	2	5,1	
<b>&gt;9 meses</b>	Leche A	7	17,9	

<b>No sabe</b>	Leche B	3	7,7	
	Leche A	2	5,1	
	Leche B	8	20,5	
<b>Inicio Cereales sin gluten</b>				NS (p=0,470)
<b>0 - &lt;4 meses</b>	Leche A	4	10,26	
	Leche B	1	2,56	
<b>4 - &lt;6 meses</b>	Leche A	4	10,26	
	Leche B	5	12,82	
<b>6 - &lt;9 meses</b>	Leche A	2	5,13	
	Leche B	4	10,26	
<b>≥9 meses</b>	Leche A	1	2,56	
	Leche B	0	0	
<b>No sabe</b>	Leche A	9	23,08	
	Leche B	9	23,08	
<b>Inicio Cereales con gluten</b>				NS (p=0,290)
<b>0 - &lt;4 meses</b>	Leche A	0	0	
	Leche B	2	5,13	
<b>4 - &lt;6 meses</b>	Leche A	5	12,8	
	Leche B	1	2,6	
<b>6 - &lt;9 meses</b>	Leche A	6	15,4	
	Leche B	6	15,4	
<b>≥9 meses</b>	Leche A	1	2,56	
	Leche B	2	5,13	
<b>No sabe</b>	Leche A	8	20,5	
	Leche B	8	20,5	

NS, no significativo.

**Tabla 26.** Edad de diagnóstico de la enfermedad celiaca y síntomas principales de diagnóstico en los enfermos celiacos del estudio CIBOM que tomaron las leches experimentales

Edad Diagnóstico (años)	Tipo de Leche	N	%	Significación leche A vs B
0 – 15 años	Leche A	3	7,7	+(p=0,083)
	Leche B	2	5,1	
15 – <25 años	Leche A	3	7,7	
	Leche B	9	23,1	
25 - <40 años	Leche A	9	23,1	
	Leche B	8	20,5	
40 - <50 años	Leche A	4	10,3	
	Leche B	0	0	
≥50 años	Leche A	1	2,6	
	Leche B	0	0	
Síntomas de Diagnóstico				NS (p=0,430)
Digestivos	Leche A	8	20,5	
	Leche B	7	18,0	
Anemia	Leche A	2	5,1	
	Leche B	1	2,6	
Hepáticos	Leche A	0	0	
	Leche B	3	7,69	
Varios	Leche A	10	25,64	
	Leche B	8	20,51	
Asintomáticos	Leche A	0	0	
	Leche B	0	0	

+, en el borde de la significación estadística (p<0,1); NS, no significativo.

No se encontraron diferencias significativas en la distribución entre los sujetos que consumieron las dos leches experimentales atendiendo al IMC (**Tabla 27**).

**Tabla 27.** Distribución de la población de voluntarios del estudio CIBOM que tomaron las leches experimentales según el índice de masa corporal (IMC) al iniciar el estudio.

	Todos		Leche A		Leche B		P
	n	%	n	%	n	%	A vs B
Peso insuficiente <18,5 kg/m <sup>2</sup>	2	5,1	1	5,0	1	5,3	NS (p=0,53)
Normopeso ≥18.5-24,9 kg/m <sup>2</sup>	24	61,5	11	55,0	13	68,4	
Sobrepeso Grado I ≥25-26,9 kg/m <sup>2</sup>	4	10,2	2	10,0	2	10,5	
Sobrepeso Grado II ≥27-29,9 kg/m <sup>2</sup>	6	15,3	3	15,0	3	15,8	
Obesidad Grado I ≥30-34,9 kg/m <sup>2</sup>	3	7,7	3	15,0	0	0	
Total	39		20		19		

NS, no significativo

En la **tabla 27** se muestra que más de 2/3 partes de los pacientes estudiados eran normopeso, y 26,3% de ellos tenían sobrepeso. La distribución inicial de la población según el índice de masa corporal no difirió significativamente ( $p=0,534$ ) entre los voluntarios que consumieron la leche A y la B (**Tabla 27**). Sólo se encontraron dos voluntarios con índice de masa corporal menor de  $18,5 \text{ kg/m}^2$  y sólo 3 con  $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ .

La **tabla 28** indica que cerca del 30% de los voluntarios eran fumadores y de ellos sólo un 7,7% fumaban más de una cajetilla/día. La mitad de ellos manifestaron beber de forma esporádica y un 10% a diario. Más del 70% de los voluntarios se declaró sedentario.

**Tabla 28.** Consumo de tabaco y alcohol y grado de actividad física entre los voluntarios del Estudio CIBOM

		n	(%)
Fumadores	No fuman	28	71,8
	Fuman	11	28,2
Cigarrillos/día	1-<9	2	5,1
	10-19	6	15,4
	>20	3	7,7
Consumo de alcohol	No beben	12	30,8
	Nada	12	30,8
	Esporádicamente	21	53,8
	>3 veces/semana	2	5,1
	A diario	4	10,3
Actividad diaria	Sedentario	28	71,8
	Activo	11	28,2

Las **tablas 29 y 30** señalan las diferencias en las características de la dieta de los dos grupos experimentales tanto a nivel basal como a los 2, 4 y 6 meses de estudio. No se observaron diferencias significativas entre ambos grupos experimentales para ningún periodo. A los dos meses se encontraron cambios absolutos significativos en energía, proteína, hidratos de carbono, fibra y AGP  $\omega$ -3 ( $p<0,05$ ). A los 4 meses se observaron cambios en el borde de la significación estadística para energía, proteína, hidratos de carbono y fibra ( $p<0,1$ ), mientras que a los 6 meses solo de carbohidratos ( $p<0,1$ ) y de AGP  $\omega$ -3 ( $p<0,05$ ). A nivel relativo las tasas de cambio a los dos meses resultaron ser significativamente diferentes para energía, proteína hidratos de carbono, AGP n-6 y AGP n-3 ( $p<0,05$ ), y a los seis meses en los AGP ( $p<0,1$ ) y AGP  $\omega$ -6 y AGP  $\omega$ -3 ( $p<0,05$ ).

Atendiendo a la información de la composición de las leches experimentales (**Tabla 16 del apartado material y métodos**), la ingesta de 500 mL/día de la leche funcional B respecto a la leche control A supuso aproximadamente un aporte extra de 375 mg de AGP  $\omega$ -3, fundamentalmente como EPA (133 mg) y DHA (200 mg) y 150  $\mu\text{g}$  de folatos y 0,15 mg de vitamina B<sub>6</sub> y 7,5 mg de vitamina E.

La **tabla 31** muestra ingestas basales inferiores del grupo B en el ácido eicosapentaenoico ( $p<0,1$ ). A los 2 y 4 meses la situación se invierte y los individuos del grupo B consumen más EPA ( $p<0,05$ ). También se encuentran cambios absolutos significativamente diferentes durante los seis meses que dura el estudio

para la ingesta de EPA (al menos ( $p=0,015$ ) y de DHA (al menos  $p=0,039$ ). Sólo se encontraron diferencias en los cambios relativos o tasas de cambio a los seis meses para el ácido linoleico ( $P=0,020$ ) (**Tabla 32**).

La contribución de los macronutrientes y alcohol y de los ácidos grasos al total energético tendió a ser diferente ( $p<0,1$ ) en el % de AGS y AGM a los 4 meses y fue significativamente más elevado ( $p<0,05$ ) a los 6 meses en el grupo B para el %En aportado por los lípidos y los AGP (**Tabla 33**). Durante los primeros 6 meses tendió a elevarse la contribución energética (%EN) de AGP más en la dieta B (cambio absoluto) ( $p=0,051$ ). Respecto a las tasas de cambio o cambio relativo (**Tabla 34**) se observaron diferencias significativas en las tasas de cambio relativo para los hidratos de carbono a los 4 meses ( $p=0,047$ ) y tendencias para los AGP a los 4 y 6 meses de tratamiento ( $p<0,1$ ).

Las **tablas 35 a 38** muestran las diferencias significativas basales y a los 2, 4 y 6 meses de tratamiento, así como las diferencias en los cambios absolutos (efecto global) y relativos (tasas de cambio) en el contenido de minerales de las dietas de los dos grupos experimentales. Respecto a los macrominerales o minerales mayoritarios, no se observaron diferencias significativas a nivel basal ni a los 2, 4 o 6 meses entre los dos grupos experimentales (**Tabla 35**). Sin embargo, en los pacientes del grupo B los cambios en aporte de Ca, K, Mg y P durante los 2 primeros meses fueron más elevados respecto al del grupo A (al menos  $p=0,027$ ). Estos cambios aunque no son constantes tienden a mantenerse durante el estudio. Las tasas de cambio o modificaciones relativas siguen esta tendencia y se mostraron significativamente mayores en el caso del grupo B (**Tabla 36**).

Respecto a los minerales minoritarios, observamos que los niveles se mantienen bastante constantes durante todo el estudio, no encontrándose diferencias significativas entre los pacientes del grupo A y B a los 2, 4, y 6 meses del estudio entre los niveles de Cr, Cu, Fe, I, F, Mn, Ni, Se, y Zn (**Tabla 37**). No obstante, durante los dos primeros meses de estudio se observó un cambio absoluto diferente entre grupos ( $p=0,028$ ) para el Zn (**Tabla 37**), sin cambios a nivel relativo (**Tabla 38**).

Las **Tablas 39 a 42** muestran los niveles y cambios absolutos y relativos para las vitaminas hidrosolubles y liposolubles en los individuos de ambos grupos. La ingesta de vitamina B<sub>6</sub>, folatos y vitamina E fue significativamente más elevada a los 2, 4 y 6 meses de estudio (al menos  $p<0,05$ ). Para las demás vitaminas las ingestas fueron muy a los 2, 4 y 6 meses de estudio. La **Tabla 39** muestra que las tendencias de cambio absolutos fueron en todos los casos significativamente diferentes en los dos grupos experimentales para vitamina B<sub>6</sub> y folatos (al menos  $p=0,001$ ). También a los dos meses hubo diferencias entre ambos grupos para la tiamina, riboflavina, equivalentes de niacina, pantoténico y biotina ( $p<0,05$ ); durante los 4 primeros meses para la riboflavina y pantoténico ( $p<0,05$ ). Durante los 6 meses del estudio fue significativa para ácido pantoténico ( $p<0,05$ ) y casi significativa para la riboflavina ( $p<0,1$ ). A nivel relativo se observan diferencias significativas en las tasas de cambio particularmente durante los dos primeros meses de estudio, para la ingesta de casi todas las vitaminas hidrosolubles y durante todo el estudio para la de folatos y Vitamina B<sub>6</sub> (**Tabla 40**).

Respecto a las vitaminas liposolubles la ingesta de Vitamina E difirió a los 2, 4 y 6 meses de estudio para la Vitamina E ( $p<0,001$ ). Los cambios absolutos fueron significativamente distintos a los dos meses la vitamina A, retinol ( $p<0,05$ ) y Vitamina E ( $p<0,0001$ ). A los 4 meses los cambios fueron diferentes para la vitamina K ( $p<0,05$ ) y la vitamina E ( $p=0,007$ ). A los 6 meses los cambios absolutos en la ingesta entre grupos fueron casi significativos solo para la vitamina E ( $p<0,0001$ ) (**Tabla 41**). De forma equivalente se observaron durante los dos primeros meses de tratamiento diferencias en el borde de la significación estadística ( $p<0,1$ ) en la tasa de cambio de la ingesta para la vitamina A, retinol y vitamina D y muy significativo durante todo el estudio para la Vitamina E ( $p<0,0001$ ) (**Tabla 42**).

Las **tablas 43 y 44** resumen la información sobre el IAS y sus componentes, así como las diferencias significativas basales y a los 2, 4 y 6 meses de tratamiento. A nivel basal la calidad global de la dieta y la puntuación de los AGS tendió a ser menor a nivel basal en el grupo B ( $P<0,05$  y  $P<0,1$ , respectivamente). A los dos meses la puntuación de los lácteos tendió a ser mayor en el lote B ( $p<0,1$ ), mientras que a los 4 y 6 meses, la calidad por la contribución de AGS al total de la energía (IAS En AGS) tendió a ser peor ( $P<0,05$  y  $p<0,1$ , respectivamente). No obstante las tasas de cambio solo señalaron diferencias significativas en el

cambio absoluto entre ambos grupos para “la variedad” a los dos meses ( $p<0,01$ ) (**Tabla 43**). Las tendencias relativas de cambio (tasas de cambio) fueron significativas entre los dos grupos a los dos meses ( $p=0,038$ ) (**Tabla 44**).

En cuanto al perfil de ácidos grasos del suero de los voluntarios (en % del total de ácidos grasos, **Tablas 45 a 48**, y en g/dL, **Tablas 49 a 52**), puede decirse que basalmente no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes ácidos grasos o grupos de ácidos grasos estudiados (todos  $p>0,05$ ). A los dos y cuatro meses se encuentran diferencias o tendencias a la diferencia en el porcentaje y contenido absoluto (g/dL) de ácido eicosapentaenoico (**Tablas 45 y 49**, respectivamente) y de los AGP  $\omega$ -3 (**tablas 47 y 51**). Los cambios absolutos también fueron diferentes significativamente entre los pacientes de ambos grupos para este ácido graso de la familia omega-3 (durante los 2, 4 y 6 meses de estudio) (**Tabla 45**), mientras que las tasas de cambio tendieron a ser significativamente diferentes entre los grupos A y B para este ácido graso sólo durante los 2 primeros meses del estudio y para el ácido  $\alpha$ -linoleico durante todo el estudio ( $p=0,085$  y  $p=0,034$ , respectivamente) (**Tabla 46**). Para el total de AGS, AGM y AGP  $\omega$ -3 o AGP  $\omega$ -6 no se observaron cambios significativos durante los diferentes etapas estudiadas ni a nivel de % de ácidos graso (**Tabla 47 y 48**) ni en g/dL (**Tablas 51 y 52**).

Las **tablas 53 a 56** muestran los recuentos de hematíes, leucocitos y plaquetas y otros parámetros hemáticos a nivel basal y a los 2, 4 y 6 meses del estudio. No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos excepto para el CHCM a los 2 meses ( $p<0,05$ ) (**Tabla 53**). Tampoco fueron diferentes el cambio global entre los dos grupos a nivel absoluto (excepto la tendencia en el número de leucocitos ( $p=0,096$ ) y de neutrófilos ( $p=0,051$ ) durante los dos primeros meses de estudio (**Tabla 54**) o las tasas de cambio del ADE durante los 4 meses de estudio ( $p=0,055$ ) (**Tabla 55**).

Las **Tablas 57 y 58** refieren que no se encontraron diferencias significativas a nivel basal, ni a los 2, 4 y 6 meses de estudio para los niveles de ácido úrico y algunas proteínas plasmáticas, excepto a los 4 meses que tendió a ser significativamente menor para la cisteína (**Tabla 41**). Ni el efecto global ni las tasas de cambios fueron diferentes o estuvieron en el borde de la significación estadística entre ambos grupos experimentales.

Respecto a las transaminasas y fosfatasa alcalina (**Tablas 59 y 60**) no se encontraron diferencias significativas a nivel basal, ni a los 2, 4 y 6 meses de estudio. Ni el efecto global ni las tasas de cambios fueron diferentes o estuvieron en el borde de la significación estadística entre ambos grupos experimentales.

Las **tablas 61 y 62** resumen los resultados para algunos minerales del suero de los voluntarios de ambos grupos experimentales. Los niveles de P fue significativamente menores ( $p<0,05$ ) a los dos meses de estudio. Tanto el efecto global como las tasas de cambio fueron significativos durante los dos primeros meses, con tendencia de cambio global también para el P después de 4 y seis meses de estudio.

Las **Tablas 63 y 64** muestran los niveles y cambios sucedidos en algunos biomarcadores inflamatorios y de daño mucosal. Basalmente los pacientes del grupo B muestran título de antiendomisio significativamente más elevados ( $p<0,05$ ). No encontrándose posteriormente valores distintos entre los dos grupos. Se observaron diferencias significativas o en el borde de la significación estadística en el efecto global a los 2 y 4 meses para la IgA<sub>2</sub> ( $p=0,043$  y  $p=0,057$ , respectivamente) (**Tabla 63**) y diferencias en la Tasa de cambio para la IL-2 a los 4 meses ( $p=0,067$ ) y para la IgA<sub>2</sub> ( $p=0,048$ ) durante los dos primeros meses (**Tabla 64**).

Las **Tablas 65 y 66** resumen los cambios en lípidos, lipoproteínas, glucosa y homocisteína debidos al consumo de ambas leches experimentales. A nivel basal los individuos del grupo B presentan niveles de LDLc y HDLc que tendió a ser significativamente diferente entre grupos ( $p<0,1$ ). También los voluntarios del grupo B mostraban a nivel basal cocientes de riesgo CT/HDLc y LDLc/HDLc significativamente menores ( $p<0,05$ ). Después de 2 meses de estudio se encontraron niveles significativamente más bajos en el grupo B de glucosa y homocisteína ( $p<0,05$ ). A los 4 meses se observaron niveles menores de homocisteína en los individuos del grupo B ( $p<0,05$ ) y tendencia a valores más elevados de HDL y menores de los cocientes

de riesgo CT/HDLc y LDLc/HDLc (todos  $p < 0,1$ ) en estos voluntarios (**Tabla 65**). Respecto a los cambios globales se muestran cambios significativos (al menos  $p = 0,005$ ) en todos los periodos estudiados y en el bode para la significación estadística para HDLc y CT/HDLc a los dos meses y para los triglicéridos a los 4 meses (todos  $p < 0,1$ ) (**Tabla 65**). En cuanto a las tasas de cambio fueron muy significativas para la homocisteína durante los 2 y 4 primeros meses de estudio (al menos  $P = 0,001$ ). También se encontraron resultados para la tasa de cambio que estuvieron en el borde de la significación estadística después de dos meses para HDLc y CT/HDLc y para la homocisteína ( $p < 0,1$ ) (**Tabla 66**).



**Tabla 29.** Cambios en la dieta a los 2, 4 y 6 meses en energía, macronutrientes, alcohol y fibra en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Energía</b> (kcal)	A (n=20) B (n=19)	2593±957,1 2421±712,3	2289±1076 2487±638,0	2359±663,6 2248±670,6	2393±824,9 2388±606,1	<b>0,032</b>	<b>0,092</b>	0,138
<b>Proteína</b> (g)	A (n=20) B (n=19)	124,1±55,6 111,3±31,4	111,0±50,9 115,6±32,9	115,6±37,1 102,1±30,1	119,2±44,4 112,0±22,5	<b>0.030</b>	<b>0,058</b>	0,100
<b>Lípidos</b> (g)	A (n=20) B (n=19)	128,1±54,9 124,0±39,8	109,7±54,1 121,3±37,3	118,3±36,2 112,9±40,5	112,9±40,2 119,7±32,0	0,167	0,275	0,318
<b>Carbohidratos</b> (g)	A (n=20) B (n=19)	217,9±75,3 193,8±70,5	193,5±79,0 214,7±68,0	187,8±59,2 188,7±53,6	204,2±68,3 197,8±64,9	<b>0,033</b>	<b>0,065</b>	<b>0,096</b>
<b>Alcohol</b> (g)	A (n=20) B (n=19)	2,4±5,1 2,5±5,7	4,7±10,9 3,6±7,7	3,8±7,8 2,9±7,0	3,9±7,6 2,5±5,2	0,602	0,739	0,744
<b>Fibra</b> (g)	A (n=20) B (n=19)	27,4±14,5 22,6±11,9	24,2±15,1 25,4±10,3	27,4±11,8 24,0±8,6	28,9±16,1 27,0±12,3	<b>0,041</b>	<b>0,090</b>	0,211
<b>AGS</b> (g)	A (n=20) B (n=19)	42,6±19,9 41,3±11,6	36,2±16,7 41,7±12,7	34,9±11,6 38,6±14,6	36,2±12,9 38,7±11,1	0,098	0,286	0,384
<b>ÁGM</b> (g)	A (n=20) B (n=19)	57,3±23,1 54,8±19,0	48,7±25,2 52,2±15,0	55,4±19,2 49,2±17,5	50,6±16,8 53,5±15,3	0,281	0,202	0,175
<b>AGP</b> (g)	A (n=20) B (n=19)	18,8±9,5 18,9±9,6	16,6±10,2 19,1±10,1	18,5±6,8 16,7±7,5	17,6±9,3 20,6±5,8	0,256	0,171	0,133
<b>AGP ω-6</b> (g)	A (n=20) B (n=19)	16,35±8,34 16,30±9,00	14,51±9,18 17,67±8,55	16,07±6,13 15,79±6,75	15,12±8,10 17,93±5,12	0,143	0,757	0,207
<b>AGP ω-3</b> (g)	A (n=20) B (n=19)	2,33±1,25 2,11±0,75	2,09±1,03 2,48±1,05	2,39±0,84 2,38±0,82	2,43±1,17 2,69±0,74	<b>0.039</b>	0,500	<b>0.042</b>
<b>AGP ω-6/ AGP ω-3</b>	A (n=20) B (n=19)	6,84±1,81 7,09±1,88	7,08±2,04 7,57±2,33	6,96±1,43 7,16±1,98	6,92±1,78 6,65±1,52	0,942	0,398	0,324

Media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas. AGS, Ácidos grasos saturados; AGM, Ácidos grasos monoinsaturados; AGP, Ácidos grasos poliinsaturados. +Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001.

**Tabla 30.** Tasa de cambio (%) en la dieta a los 2, 4 y 6 meses en los AGS, AGM y AGP y cocientes  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Cambio dos meses (% A-B)	Cambio cuatro meses (% A-B)	Cambio seis meses (% A-B)
<b>Energía</b> (kcal)	A	2593±957,1	-16,19 (-30,39; -1,99); <b>P=0,027</b>	-1,38 (-15,17; 12,41); P=0,840	-6,32 (-18,35; 5,71); P=0,294
	B	2421±712,3			
<b>Proteína</b> (g)	A	124,1±55,6	-13,28 (-26,48; -0,07); <b>P=0,049</b>	4,12 (-10,18; 18,42); P=0,563	-3,01 (-16,99; 10,96); P=0,665
	B	111,3±31,4			
<b>Lípidos</b> (g)	A	128,1±54,9	-13,16 (-31,91; 5,60); P=0,164	1,35 (-18,55; 21,26); P=0,890	-8,13 (-23,84; 7,58); P=0,301
	B	124,0±39,8			
<b>Carbohidratos</b> (g)	A	217,9±75,3	-23,05 (-45,02; -1,09); <b>P=0,040</b>	-12,22 (-29,13; 4,68); P=0,151	-8,13 (-26,14; 9,87); P=0,366
	B	193,8±70,5			
<b>Alcohol</b> (g)	A	2,4±5,1	3,10 (-805,9; 812,1); P=0,994	1931 (-21914; 6777); P=0,378	-112,6 (-357,2; 131,9); P=0,340
	B	2,5±5,7			
<b>Fibra</b> (g)	A	27,4±14,5	-28,74 (-59,77; 2,28); <b>P=0,068</b>	-6,73 (-38,94; 25,48); P=0,675	-16,41 (-44,73; 11,91); P=0,248
	B	22,6±11,9			
<b>AGS</b> (g)	A	42,6±19,9	-15,30 (-36,15; 5,55); P=0,146	-9,21 (-29,71; 11,30); P=0,369	-5,31 (-23,28; 12,65); P=0,553
	B	41,3±11,6			
<b>AGM</b> (g)	A	57,3±23,1	-14,05 (-35,26; 7,15); P=0,188	3,61 (-20,04; 27,28); P= 0,756	-10,55 (-28,61; 5,51); P=0,244
	B	54,8±19,0			
<b>AGP</b> (g)	A	18,8±9,5	-12,17 (-35,01; 10,66); P=0,287	10,65 (-10,85; 32,15); P=0,322	-15,57 (-33,98; 2,85); <b>P=0,095</b>
	B	18,9±9,6			
<b>AGP <math>\omega</math>-6</b> (g)	A	16,35±8,34	-20,3 (-40,8; 0,04); <b>P=0,05</b>	2,11 (-20,3; 24,5); P=0,850	-23,7 (-43,8; -3,66); <b>P=0,022</b>
	B	16,30±9,00			
<b>AGP <math>\omega</math>-3</b> (g)	A	2,33±1,25	-22,2 (-45,16; 0,84); <b>P=0,049</b>	-0,98 (-33,18; 31,21); P=0,951	-23,55 (-44,97; -2,35); <b>P=0,032</b>
	B	2,11±0,75			
<b>AGP <math>\omega</math>-6/<math>\omega</math>-3</b>	A	6,84±1,81	3,06 (-20,4; 26,5); 30,70); P=0,793	13,36 (-11,75; 38,5); P=0,288	1,13 (-23,3; 25,6); P=0,926
	B	7,09±1,88			

Los datos corresponden la media  $\pm$  SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de 20 individuos para la leche A y 19 para la leche B. AGS, Ácidos grasos saturados; AGM, Ácidos grasos monoinsaturados; AGP, Ácidos grasos poliinsaturados. Los valores en negrita para  $p < 0,05$  son significativos; para  $p < 0,1 > 0,5$ , marginalmente significativos.

**Tabla 31.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en el perfil de ácidos grasos (g/día) de la dieta de los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Mirístico (g)</b> (14:0)	A (n=20) B (n=19)	4,0±2,6 3,5±1,1	3,5±1,6 3,8±1,5	3,2±1,1 3,6±1,4	3,4±1,2 3,4±1,3	0,104	0,160*	0,236*
<b>Palmitico (g)</b> (16:0)	A (n=20) B (n=19)	22,8±10,4 22,6±6,7	19,0±9,7 22,4±6,7	19,6±6,3 21,0±7,9	19,0±7,3 20,7±6,2	0,119	0,332	0,467
<b>Palmitoleico (g)</b> (16:1ω-7)	A (n=20) B (n=19)	2,6±1,5 2,3±0,82	2,2±1,13 2,3±0,75	2,3±0,87 2,2±0,85	2,3±1,2 2,2±0,63	0,156	0,396	0,509
<b>Esteárico (g)</b> (18:0)	A (n=20) B (n=19)	9,2±4,2 9,2±2,8	7,8±4,1 9,1±2,7	8,2±2,8 8,6±3,6	7,8±3,0 8,1±2,5	0,211	0,481	0,606
<b>Oleico (g)</b> (18:1ω-9)	A (n=20) B (n=19)	52,9±20,2 50,9±17,6	45,1±23,4 48,5±14,0	51,8±18,0 45,6±16,2	46,8±15,0 49,7±14,4	0,303	0,176	0,152
<b>α-Linoleico (g)</b> (18:2ω-6)	A (n=20) B (n=19)	16,0±8,3 16,3±8,9	14,1±9,1 17,3±8,5	15,7±6,1 15,5±6,7	14,8±8,0 17,6±5,1	0,144	0,751	0,163
<b>α-Linolénico (g)</b> (18:3ω-3)	A (n=20) B (n=19)	1,9±0,90 1,9±0,72	1,95±0,96 1,90±0,73	1,8±0,98 1,94±0,89	1,94±0,71 1,78±0,65	0,432	0,640	0,474
<b>Araquidónico (g)</b> (20:4ω-6)	A (n=20) B (n=19)	0,17±0,13 0,13±0,09	0,15±0,12 0,14±0,15	0,16±0,12 0,13±0,08	0,14±0,11 0,12±0,06	0,487	0,752	0,825
<b>EPA (g)</b> (20:5 ω-3)	A (n=20) B (n=19)	0,17±0,24 0,07±0,10+	0,10±0,17 0,28±0,27*	0,13±0,15 0,25±0,14*	0,22±0,25 0,32±0,29	<b>0,007</b>	<b>0,008</b>	<b>0,015</b>
<b>DPA (g)</b> (22:5 ω-3)	A (n=20) B (n=19)	0,05±0,07 0,04±0,04	0,03±0,02 0,03±0,02	0,05±0,06 0,04±0,05	0,06±0,06 0,04±0,04	0,670	0,859	0,810
<b>DHA (g)</b> (22:6 ω-3)	A (n=20) B (n=19)	0,33±0,38 0,17±0,20	0,15±0,12 0,42±0,24	0,30±0,33 0,46±0,29	0,36±0,37 0,57±0,49	<b>0,001***</b>	<b>0,039*</b>	<b>0,013*</b>

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas.

+Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001. DHA, docosahexaenoico; DPA, docosapentaenoico; EPA, eicosapentaenoico.

**Tabla 32.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en el perfil de **ácidos grasos de la dieta** de los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Dos meses (% A-B)	Leche	Basal	Dos meses (% A-B)	Cuatro meses (% A-B)	Six meses (% A-B)	Dos meses (% A-B)	Cuatro meses (% A-B)	Six meses (% A-B)
<b>Mirístico (g)</b> (14:0)	A	4,0±2,6	-14,70 (-39,74; 10,33); P=0,242	-21,53 (-47,02; 3,97); P=0,096	1,16 (-29,77; 32,09); P=0,940				
	B	3,5±1,1							
<b>Palmitico (g)</b> (16:0)	A	22,8±10,4	-15,80 (-38,07; 6,46); P=0,159	-5,69 (-27,14; 15,76); P=0,594	-5,77 (-24,35; 12,80); P=0,533				
	B	22,6±6,7							
<b>Palmitoleico (g)</b> (16:1 ω-7)	A	2,6±1,5	-12,71 (-35,86; 10,44); P=0,273	-5,70 (-30,79; 19,40); P=0,648	-5,22 (-23,39; 12,96); P=0,564				
	B	2,3±0,82							
<b>Esteárico (g)</b> (18:0)	A	9,2±4,2	-16,16 (-41,49; 9,16); P=0,204	-5,15 (-30,24; 19,93); P=0,680	-2,13 (-21,92; 17,66); P=0,828				
	B	9,2±2,8							
<b>Oleico (g)</b> (18:1 ω-9)	A	52,9±20,2	-14,49 (-36,09; 7,11); P=0,182	4,22 (-19,14; 27,58); P=0,717	-10,97 (-29,38; 7,45); P=0,235				
	B	50,9±17,6							
<b>α-Linoleico (g)</b> (18:2 ω-6)	A	16,0±8,3	-20,64 (-45,76; 4,47); P=0,109	2,16 (-20,8; 25,1); P=0,849	-24,51 (-45,0; -4,04); <b>P=0,020</b>				
	B	16,3±8,9							
<b>α-Linolénico (g)</b> (18:3 ω-3)	A	1,9±0,90	-5,95 (-33,39; 21,49); P=0,663	8,69 (-18,87; 36,25); P=0,527	-10,45 (-31,13; 10,24); P=0,313				
	B	1,9±0,72							
<b>Araquidónico (g)</b> (20:4 ω-6)	A	0,17±0,13	-49,58 (218,2; 119,0); P=0,555	-17,82 (129,4; 93,7); P=0,748	-30,41 (118,2; 57,4); P=0,487				
	B	0,13±0,09							
<b>EPA (g)</b> (20:5 ω-3)	A	0,17±0,24	-6,9*10 <sup>15</sup> (-1,6*10 <sup>15</sup> ; 2,4*10 <sup>15</sup> ); P=0,158	-4,5*10 <sup>15</sup> (-1,2*10 <sup>16</sup> ; 2,5*10 <sup>15</sup> ); P=0,211	-7,2*10 <sup>15</sup> (-1,7*10 <sup>16</sup> ; 2,5*10 <sup>15</sup> ); P=0,160				
	B	0,07±0,10+							
<b>DPA (g)</b> (22:5 ω-3)	A	0,05±0,07	2,8*10 <sup>14</sup> (-3*10 <sup>14</sup> ; 9*10 <sup>14</sup> ); P=0,340	1,0*10 <sup>13</sup> (-3*10 <sup>14</sup> ; 5*10 <sup>14</sup> ); P=0,639	1,6*10 <sup>14</sup> (-5*10 <sup>14</sup> ; 8*10 <sup>14</sup> ); P=0,614				
	B	0,04±0,04							
<b>DHA (g)</b> (22:6 ω-3)	A	0,33±0,38	-1,6*10 <sup>15</sup> (-1,7*10 <sup>16</sup> ; 1,4*10 <sup>16</sup> ); P=0,835	-3,8*10 <sup>15</sup> (-1,8*10 <sup>16</sup> ; 9,9*10 <sup>15</sup> ); P=0, 577	-7,2*10 <sup>14</sup> (-2,5*10 <sup>16</sup> ; 1,0*10 <sup>16</sup> ); P=0,407				
	B	0,17±0,20							

Los datos corresponden a la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de 20 individuos para la leche A y 19 para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos. DHA, docosahexaenoico; DPA, docosapentaenoico; EPA, eicosapentaenoico.

**Tabla 33.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en la contribución energética (%En) de los macronutrientes y el alcohol al total de la ingesta calórica y en el aporte de colesterol de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A ó B .

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
Proteína (%EN)	A (n=20)	18,9±3,3	19,4±2,0	19,5±2,3	19,9±2,1	0,708	0,668	0,820
	B (n=19)	18,6±2,4	18,7±3,0	18,3±2,2	19,1±2,8			
Lípidos (%EN)	A (n=20)	44,0±6,0	42,7±3,9	44,9±5,5	42,3±3,8	0,647	0,518	0,369
	B (n=19)	45,7±4,6	43,5±6,5	44,3±3,8	44,9±3,7*			
Carbohidratos (%EN)	A (n=20)	36,6±8,0	36,8±4,4	34,7±7,3	36,8±5,3	0,386	0,233	0,257
	B (n=19)	34,5±6,5	36,9±7,3	36,4±4,8	35,4±5,2			
AGS (%EN)	A (n=20)	14,8±3,3	14,4±3,0	13,8±3,0	13,7±2,0	0,997	0,657	0,820
	B (n=19)	15,5±2,4	15,1±2,7	15,2±1,8+	14,6±2,2			
AGM (%EN)	A (n=20)	19,8±2,9	19,0±2,3	21,0±2,9	19,2±2,2	0,684	0,234	0,136
	B (n=19)	20,2±2,9	18,9±3,1	19,5±2,5+	20,1±2,4			
AGP (%EN)	A (n=20)	6,4±1,4	6,3±1,5	7,0±1,9	6,4±1,5	0,874	0,238	<b>0,051</b>
	B (n=19)	6,8±1,4	6,6±2,1	6,5±1,7	7,7±1,5*			
Alcohol (%EN)	A (n=20)	0,61±1,3	1,1±1,8	0,97±1,8	1,0±1,5	0,543	0,814	0,657
	B (n=19)	0,79±1,8	1,0±2,4	0,96±2,3	0,67±1,3			
Colesterol (mg)	A (n=20)	465,7±255,5	404,1±217,7	400,4±167,7	418,9±218,6	0,199	0,427	0,634
	B (n=19)	398,1±131,4	411,7±107,5	378,2±140,1	372,3±97,4			

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas.

AGS, Ácidos grasos saturados; AGM, Ácidos grasos monoinsaturados; AGP, Ácidos grasos poliinsaturados. +Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1);

\*P<0.05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0.001.

**Tabla 34.** Tasa de cambio (%) en la dieta a los 2, 4 y 6 meses en la contribución energética de los macronutrientes y el alcohol al total de la ingesta calórica y en el aporte de colesterol de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses (% A-B)	Cuatro meses (% A-B)	Seis meses (% A-B)
Proteína (%EN)	A	18,9±3,3	2,01 (-10,59; 14,62); P=0,747	5,78 (-6,02; 17,58); P=0,327	4,45 (-5,82; 14,71); P=0,386
	B	18,6±2,4			
Lípidos (%EN)	A	44,0±6,0	3,15 (-6,53; 12,83); P=0,514	5,03 (-3,88; 13,94); P=0,260	-1,37 (-9,44; 6,70); P=0,733
	B	45,7±4,6			
H de C (%EN)	A	36,6±8,0	-5,86 (-23,30; 11,57); P=0,500	-13,34 (-26,47; -0,20); <b>P=0,047</b>	-2,58 (-17,91; 12,75); P=0,735
	B	34,5±6,5			
AGS (%EN)	A	14,8±3,3	0,93 (-11,87; 13,73); P=0,884	-5,35 (-16,58; 5,89); P=0,341	0,63 (-10,89; 12,14); P=0,913
	B	15,5±2,4			
AGM (%EN)	A	19,8±2,9	2,80 (-9,45; 15,06); P=0,646	8,17 (-4,09; 20,43); P=0,185	-2,86 (-14,31; 8,58); P=0,615
	B	20,2±2,9			
AGP (%EN)	A	6,4±1,4	3,66 (-13,35; 20,68); P=0,665	15,03 (-0,95; 31,01); <b>P=0,065</b>	-15,34 (-31,59; 0,91); <b>P=0,064</b>
	B	6,8±1,4			
Alcohol (%EN)	A	0,61±1,3	-3,84 (-980; 972); P=0,993	2622 (3855; 9099); P=0,371	-138,6 (-418,9; 141,8); P=0,307
	B	0,79±1,8			
Colesterol (mg)	A	465,7±255,5	-14,69 (-45,68; 16,30); P=0,343	-6,23 (-37,06; 24,59); P=0,684	-1,58 (-29,26; 26,10); P=0,909
	B	398,1±131,4			

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de 20 individuos para la leche A y 19 para la leche B. AGS, Ácidos grasos saturados; AGM, Ácidos grasos monoinsaturados; AGP, Ácidos grasos poliinsaturados. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos.

**Tabla 35.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en el aporte de diferentes minerales de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Ca</b> (mg)	A (n=20)	1440±604,4	1246±492,8	1292±359,4	1355±423,5	<b>0,003</b>	<b>0,026</b>	<b>0,042</b>
	B (n=19)	1208±283,2	1319±293,5	1176±234,7	1218±283,0			
<b>Cl</b> (mg)	A (n=20)	2486±1132	2196±1054	2522±768,0	2527±846,3	0,137	<b>0,058</b>	0,219
	B (n=19)	2432±696,3	2466±639,3	2247±663,0	2481±969,5			
<b>K</b> (mg)	A (n=20)	4569±1836	4036±1911,6	4417±1299	4478±1621,3	<b>0,006</b>	<b>0,018</b>	<b>0,035</b>
	B (n=19)	4128±1236	4258±1097,8	3953±952,4	4254±1057			
<b>Mg</b> (mg)	A (n=20)	458,4±202,4	409,7±214,3	436,4±128,7	452,2±187,8	<b>0,027</b>	<b>0,060</b>	0,105
	B (n=19)	410,2±142,5	428,5±136,0	380,0±110,1	427,0±117,2			
<b>Na</b> (mg)	A (n=20)	3138±2086	3535±2867	2511±924,4	2921±2004	0,138	0,189	0,230
	B (n=19)	3898±2876	2891±1806,5	2212±682,4	3798±3175			
<b>P</b> (mg)	A (n=20)	2083±817,7	1856±791,9	1933±595,7	1975±642,3	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,009</b>	<b>0,012</b>
	B (n=19)	1843±445,9	1980±557,4	1738±444,8	1827±367,8			

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas.

+Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0.05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0.001.

**Tabla 36.** Tasa de cambio (%) en la dieta a los 2, 4 y 6 meses en el aporte de diferentes minerales de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A o B. consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Ca</b> (mg)	A	1440±604,4	-21,93 (-38,10; -5,78); <b>P=0,009</b>	-5,86 (-19,36; 7,64); P=0,384	-3,93 (-21,80; 13,94); P=0,659
	B	1208±283,2			
<b>Cl</b> (mg)	A	2486±1132	-16,39 (-36,76; 3,99); P=0,111	11,07 (-12,41; 34,55); P=0,346	4,54 (-24,07; 33,14); P=0,750
	B	2432±696,3			
<b>K</b> (mg)	A	4569±1836	-17,63 (-28,97; -6,29); <b>P=0,003</b>	2,72 (-9,26; 14,71); P=0,648	-5,38 (-16,53; 5,77); P=0,334
	B	4128±1236			
<b>Mg</b> (mg)	A	458,4±202,4	-17,97 (-32,54; -3,47); <b>P=0,017</b>	5,03 (-9,80; 19,86); P=0,496	-6,73 (-21,05; 7,59); P=0,347
	B	410,2±142,5			
<b>Na</b> (mg)	A	3138±2086	31,77 (-32,76; 96,30); P=0,325	20,89 (1,34; 40,44); <b>P=0,037</b>	-19,45 (-80,97; 42,07); P=0,526
	B	3898±2876			
<b>P</b> (mg)	A	2083±817,7	-17,17 (-26,69; -7,64); <b>P=0,001</b>	0,21 (-9,94; 10,37); P=0,966	-2,60 (-14,13; 8,93); P=0,650
	B	1843±445,9			

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos.



**Tabla 37.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en el aporte de diferentes minerales de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Cr</b> (µg)	A (n=20)	37,70±25,44	32,63±18,82	37,33±20,23	38,12±21,82	0,332	0,194	0,258
	B (n=19)	36,74±27,22	40,60±22,61	29,22±17,04	40,10±27,15			
<b>Cu</b> (mg)	A (n=20)	2,76±1,52	2,51±1,66	2,67±1,18	2,86±1,64	0,405	0,430	0,611
	B (n=19)	2,50±1,20	2,53±1,17	2,28±0,99	2,70±1,21			
<b>Fe</b> (mg)	A (n=20)	20,41±8,81	17,89±9,21	19,70±6,61	20,74±10,6	<b>0,072</b>	0,119	0,215
	B (n=19)	18,78±7,77	19,47±7,21	17,85±6,20	20,61±6,39			
<b>I</b> (µg)	A (n=20)	165,2±74,6	155,5±76,8	160,5±45,1	163,9±65,3	0,400	0,614	0,756
	B (n=19)	152,7±41,6	152,9±43,5	144,0±43,5	157,6±40,9			
<b>F</b> (µg)	A (n=20)	622,3±242,8	531,4±303,4	506,4±154,8	520,4±189,8	0,764	0,852	0,887
	B (n=19)	565,6±228,1	502,6±224,9	431,5±169,6	476,8±160,0			
<b>Mn</b> (mg)	A (n=20)	4,05±2,07	3,86±2,48	3,99±1,79	4,15±2,47	0,137	0,146	0,213
	B (n=19)	3,58±1,70	4,07±1,54	3,36±1,40	4,07±1,61			
<b>Ni</b> (µg)	A (n=20)	315,3±189,7	289,5±226,1	320,0±169,7	340,1±218,0	0,340	0,389	0,477
	B (n=19)	290,5±210,3	310,6±187,1	265,9±172,7	335,7±186,4			
<b>Se</b> (µg)	A (n=20)	90,77±35,78	83,92±46,48	84,62±32,91	87,68±34,75	0,426	0,810	0,856
	B (n=19)	84,61±27,75	88,92±31,63	85,78±46,84	94,81±38,39			
<b>Zn</b> (mg)	A (n=20)	15,93±7,43	14,30±6,79	14,79±5,07	15,33±6,21	<b>0,028</b>	<b>0,087</b>	0,153
	B (n=19)	14,34±3,38	14,33±3,43	12,72±3,44	14,10±3,0			

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas.

+Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001.

**Tabla 38.** Tasa de cambio (%) en la dieta a los 2, 4 y 6 meses en el aporte de minerales de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Cr</b> (μg)	A	37,70±25,44	-42,99 (122,30; 36,33); P=0,279	12,88 (-48,72; 74,48); P=0,674	-2,24 (-63,87; 59,38); P=0,942
	B	36,74±27,22			
<b>Cu</b> (mg)	A	2,76±1,52	-3,49 (-38,16; 31,19); P=0,840	13,25 (-9,95; 36,44); P=0,255	-1,70 (-24,05; 20,64); P=0,878
	B	2,50±1,20			
<b>Fe</b> (mg)	A	20,41±8,8	-16,24 (-36,78 ;4,30) P=0,118	2,54 (-14,62 ;19,70); P=0,766	-11,82 (-26,60 ;2,96); P=0,114
	B	18,78±7,77			
<b>I</b> (μg)	A	165,2±74,6	-7,59 (-23,06; 7,88); P=0,327	7,30 (-12,17; 26,76); P=0,452	-5,17 (-22,83; 12,49); P=0,557
	B	152,7±41,6			
<b>F</b> (μg)	A	622,3±242,8	-8,10 (-33,21; 17,02); P=0,518	2,37 (-22,53; 27,27); P=0,848	0,15 (-15,96; 16,25); P=0,985
	B	565,6±228,1			
<b>Mn</b> (mg)	A	4,05±2,07	-21,19 (-55,89; 13,51); P=0,224	4,06 (-16,09; 24,22); P=0,685	-15,54 (-42,23; 11,14); P=0,246
	B	3,58±1,70			
<b>Ni</b> (μg)	A	315,3±189,7	-31,24 (-81,06; 18,58); P=0,212	9,63 (-42,97; 62,23); P=0,713	-15,82 (-60,56; 28,92); P=0,478
	B	290,5±210,3			
<b>Se</b> (μg)	A	90,77±35,78	-11,42 (-38,54; 15,70); P=0,399	0,30 (-33,29; 33,90); P=0,985	-8,24 (-47,81; 31,34); P=0,676
	B	84,61±27,75			
<b>Zn</b> (mg)	A	15,93±7,43	-9,72 (-22,53; 3,10); P=0,133	4,57 (-8,79; 17,93); P=0,492	-2,42 (-16,73; 11,89); P=0,733
	B	14,34±3,38			

Los datos corresponden a la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos.

**Tabla 39.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en el aporte de vitaminas hidrosolubles de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Tiamina</b> (mg)	A (n=20) B (n=19)	2,4±1,1 2,2±0,9	2,1±1,1 2,4±0,8	2,3±0,9 2,3±1,0	2,4±1,1 2,4±0,7	<b>0,036</b>	0,161	0,250
<b>Riboflavina</b> (mg)	A (n=20) B (n=19)	3,1±1,4 2,6±0,8	2,7±1,2 2,8±0,7	2,8±0,87 2,5±0,6	2,8±1,0 2,6±0,6	<b>0,008</b>	<b>0,033</b>	<b>0,065</b>
<b>Equiv Niacina</b> (mg)	A (n=20) B (n=19)	46,6±20,2 41,5±13,6	40,6±18,4 43,8±13,9	43,2±14,1 40,3±15,4	43,7±16,2 42,2±9,5	<b>0,040</b>	0,111	0,176
<b>Vitamina B<sub>6</sub></b> (mg)	A (n=20) B (n=19)	2,9±1,3 2,4±0,8	2,6±1,0 4,1±1,0***	2,7±0,9 3,8±0,9***	2,7±1,0 4,0±0,7***	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Folatos</b> (µg)	A (n=20) B (n=19)	367,6±174,4 295,3±147,7	329,2±166,9 481,6±136,6 **	374,1±117,8 466,4±124,2*	401,0±171,6 502,8±139,8*	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Vitamina B<sub>12</sub></b> (µg)	A (n=20) B (n=19)	8,6±5,9 7,3±4,2	6,7±3,2 7,2±4,3	6,8±3,2 5,7±2,2	8,0±5,0 6,9±4,0	0,323	0,415	0,525
<b>Vitamina C</b> (mg)	A (n=20) B (n=19)	119,3±70,2 102,0±54,4	109,8±57,0 110,8±63,4	115,6±39,7 116,3±74,0	132,6±64,3 116,5±60,5	0,320	0,558	0,590
<b>Pantoténico</b> (mg)	A (n=20) B (n=19)	7,92±3,28 6,87±1,99	6,76±3,27 7,39±1,88	7,28±1,96 6,53±1,68	7,38±2,62 6,81±1,48	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,010</b>	<b>0,013</b>
<b>Biotina</b> (µg)	A (n=20) B (n=19)	50,1±26,9 39,9±13,1	41,0±21,3 41,6±8,3	42,2±10,1 37,2±7,4+	39,9±11,3 38,9±9,3	<b>0,025</b>	0,169	0,205

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas.  
+Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001.

**Tabla 40.** Tasa de cambio (%) en la dieta a los 2, 4 y 6 meses en el aporte de vitaminas hidrosolubles de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Tiamina</b> (mg)	A	2,4±1,1	<b>-25,67 (-47,35; -3,99); P=0,022</b>	<b>-11,58 (-37,43; 14,27); P=0,370</b>	<b>-14,94 (-32,18; 2,30); P=0,087</b>
	B	2,2±0,9			
<b>Riboflavina</b> (mg)	A	3,1±1,4	<b>-20,50 (-33,16; -7,84); P=0,002</b>	<b>-6,26 (-19,27; 6,81); P=0,339</b>	<b>-9,78 (-24,35; 4,79); P=0,182</b>
	B	2,6±0,8			
<b>Equiv Niacina</b> (mg)	A	46,6±20,2	<b>-19,00 (-37,04; -0,97); P=0,039</b>	<b>-1,05 (-21,73; 19,62); P=0,918</b>	<b>-7,23 (-24,87; 10,42); P=0,412</b>
	B	41,5±13,6			
<b>Vitamina B<sub>6</sub></b> (mg)	A	2,9±1,3	<b>-85,6 (-110; -61,2); P=&lt;0,0001</b>	<b>-66,6 (-89,0; -44,3); P=&lt;0,0001</b>	<b>--75,0 (-98,0; -52,0); P=&lt;0,0001</b>
	B	2,4±0,8			
<b>Folatos</b> (µg)	A	367,6±174,4	<b>-89,6 (-127,4; -51,8); P&lt;0,0001</b>	<b>-64,9 (-104; -25,9); P=0,001</b>	<b>-71,5 (-104; -38,8); P=&lt;0,0001</b>
	B	295,3±147,7			
<b>Vitamina B<sub>12</sub></b> (µg)	A	8,6±5,9	<b>-10,94 (-55,82; 33,94); P=0,624</b>	<b>-12,05 (-16,62; 40,73); P=0,400</b>	<b>2,03 (-42,39; 46,45); P=0,927</b>
	B	7,3±4,2			
<b>Vitamina C</b> (mg)	A	119,3±70,2	<b>-26,86 (-81,43; 27,71); P=0,321</b>	<b>-2,17 (-66,42; 62,09); P=0,946</b>	<b>-3,28 (-51,83; 45,27); P=0,892</b>
	B	102,0±54,4			
<b>Pantoténico</b> (mg)	A	7,92±3,28	<b>-23,31 (-35,32; -11,30); P&lt;0,0001</b>	<b>-1,79 (-16,73; 13,16); P=0,810</b>	<b>-5,45 (-17,05; 6,14); P=0,347</b>
	B	6,87±1,99			
<b>Biotina</b> (µg)	A	50,1±26,9	<b>-24,94 (-48,73; -1,14); P=0,040</b>	<b>-9,15 (-32,49; 14,19); P=0,432</b>	<b>-13,87 (-34,83; 7,09); P=0,188</b>
	B	39,9±13,1			

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos.

**Tabla 41.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en el aporte de vitaminas liposolubles de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Vitam A: Equiv Retinol (µg)</b>	A (n=20) B (n=19)	964,9±417,9 853,6±366,1	858,7±301,3 953,6±350,6	942,1±355,6 871,2±447,3	957,6±316,8 964,2±377,2	<b>0.030</b>	0,302	0,390
<b>Retinol (µg)</b>	A (n=20) B (n=19)	522,5±299,6 385,6±160,7+	455,4±206,8 444,2±183,7	431,3±217,7 479,2±367,7	471,3±236,3 446,4±230,1	<b>0,043</b>	0,150	0,193
<b>Carotenos (µg)</b>	A (n=20) B (n=19)	2358±1600 2480±1433	2116±1200 2495±1422	2748±2155 2010±1173	2585±1591 2740±1998	0,481	0,204	0,335
<b>Vitamina D (µg)</b>	A (n=20) B (n=19)	4,20±3,89 3,2±6,2	2,28±1,14 2,88±2,42	3,01±2,73 2,55±2,14	3,44±2,60 4,28±6,45	0,353	0,479	0,452
<b>Vitamina E (mg)</b>	A (n=20) B (n=19)	10,55±5,17 10,79±5,83	9,46±4,20 17,81±6,80***	11,07±4,23 15,68±3,85***	10,22±3,16 18,18±5,19***	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,007</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Vitamina K (µg)</b>	A (n=20) B (n=19)	152,0±68,2 140,6±56,8	141,9±70,2 167,7±84,2	195,3±109,4 139,8±61,9+	188,0±111,8 166,0±54,0	0,103	<b>0,034</b>	<b>0,061</b>

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas.

+Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0.05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0.001.

**Tabla 42.** Tasa de cambio (%) en la dieta a los 2, 4 y 6 meses en el aporte de vitaminas liposolubles de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Vitam A: Equiv Retinol</b> (µg)	A	964,9±417,9	-20,19 (-44,21; 3,82); <b>P=0,097</b>	-5,39 (-51,36; 40,58); P=0,814	-17,69 (-51,58; 16,20); P=0,295
	B	853,6±366,1			
<b>Retinol</b> (µg)	A	522,5±299,6	-33,07 (-66,69; 0,56); <b>P=0,054</b>	-46,76 (106,41; 12,90); P=0,121	-25,80 (-65,50; 13,90); P=0,196
	B	385,6±160,7+			
<b>Carotenos</b> (µg)	A	2358±1600	-5,47 (-58,13; 47,19); P=0,834	39,96 (-46,52; 126,43); P=0,355	-5,23 (-89,36; 78,89)P=0,900
	B	2480±1433			
<b>Vitamina D</b> (µg)	A	4,20±3,89	-87,87 (178,34; 2,60); <b>P=0,057</b>	-69,39 (166,74;27,96); P=0,157	-69,35 (182,22; 43,52); P=0,221
	B	3,2±6,2			
<b>Vitamina E</b> (mg)	A	10,55±5,17	-85,6 (-100; -61,2); <b>P&lt;0,0001</b>	-66,6 (-89,6; 43,7); <b>P&lt;0,0001</b>	-75,0 (-98,5; -51,6); <b>P&lt;0,0001</b>
	B	10,79±5,83			
<b>Vitamina K</b> (µg)	A	152,0±68,2	-25,17 (-60,83; 10,50); P=0,161	33,77 (-33,44; 100,98); P=0,315	-7,09 (-42,29; 28,10); P=0,685
	B	140,6±56,8			

Los datos corresponden a la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos.

**Tabla 43.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en la calidad de la dieta según el índice de alimentación saludable (IAS) en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>IAS total</b>	A (n=20) B (n=19)	54,9±10,9 48,3±8,5*	54,0±10,4 52,8±11,3	57,3±8,7 53,7±8,9	56,6±9,2 51,0±10,7+	0,193	0,395	0,498
<b>IAS Cereales</b>	A (n=20) B (n=19)	3,2±2,1 2,6±1,9	3,3±2,0 2,9±1,8	2,8±1,8 2,6±1,3	3,3±2,0 3,0±1,4	0,679	0,808	0,927
<b>IAS Verduras</b>	A (n=20) B (n=19)	6,0±2,5 5,8±2,2	6,9±2,7 5,9±2,9	7,2±3,0 6,3±2,6	6,4±3,1 6,5±2,8	0,361	0,670	0,582
<b>IAS Frutas</b>	A (n=20) B (n=19)	4,8±2,5 3,6±3,7	4,0±3,0 4,0±3,3	4,6±2,6 4,1±3,6	4,5±3,0 3,7±3,4	0,275	0,580	0,659
<b>IAS Lácteos</b>	A (n=20) B (n=19)	9,7±0,9 9,5±1,0	9,5±0,9 9,9±0,2+	9,5±1,1 9,6±0,8	9,6±0,8 9,3±1,3	0,144	0,360	0,245
<b>IAS Carnes/ pescado</b>	A (n=20) B (n=19)	9,8±0,8 10,0±0,2	9,7±0,9 9,9±0,3	9,7±0,8 9,7±1,1	9,8±0,6 9,8±0,7	0,787	0,724	0,780
<b>IAS En lípidos</b>	A (n=20) B (n=19)	2,0±2,4 1,0±1,4	2,0±1,9 2,3±2,3	1,4±2,5 1,2±1,6	2,1±2,1 1,0±1,5+	0,104	0,221	0,153
<b>IAS En AGS</b>	A (n=20) B (n=19)	3,0±3,2 1,4±1,9+	3,1±3,4 2,0±2,7	3,5±3,7 1,3±1,4*	3,5±2,5 2,0±2,7+	0,561	0,398	0,634
<b>IAS Colesterol</b>	A (n=20) B (n=19)	4,4±4,1 4,8±3,8	5,6±4,4 4,0±4,4	5,0±4,5 5,6±4,5	5,3±4,4 4,8±4,2	0,277	0,394	0,528
<b>IAS Na Alimentos</b>	A (n=20) B (n=19)	8,7±2,8 7,2±4,1	7,7±4,1 8,9±2,4	9,5±2,0 9,8±0,4	8,5±3,1 7,8±3,8	<b>0,074</b>	0,103	0,182
<b>IAS Variedad</b>	A (n=20) B (n=19)	4,1±2,9 2,4±2,5+	2,9±2,7 3,1±2,7	4,2±2,2 3,5±2,3	4,0±2,5 3,4±2,6	<b>0,006</b>	<b>0,061</b>	0,131

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas. +Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001.

**Tabla 44.** Tasa de cambio (%) en la dieta a los 2, 4 y 6 meses en la calidad de la dieta según el Índice de alimentación saludable (IAS) de la dieta en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>IAS total</b>	A B	54,9±10,9 48,3±8,5*	-9,96 (-27,44; 7,52); P=0,256	-6,62 (-23,18; 9,94); P=0,423	-1,36 (-17,67; 14,95); P=0,867
<b>IAS Cereales</b>	A B	3,2±2,1 2,6±1,9	11,58 (-64,90; 88,06); P=0,761	-59,01 (-170, 4; 52,40); P=0,290	-89,81 (-266,3; 86,68); P=0,309
<b>IAS Verduras</b>	A B	6,0±2,5 5,8±2,2	22,33 (-26,34; 71,00); P=0,359	-19,34 (-102,0; 63,29); P=0,638	-25,77 (-83,55; 32,01); P=0,372
<b>IAS Frutas</b>	A B	4,8±2,5 3,6±3,7	-11,95 (-47,67; 23,76); P=0,500	-48,88 (-157,4; 59,65); P=0,351	-40,18 (-118,6; 38,26); P=0,296
<b>IAS Lácteos</b>	A B	9,7±0,9 9,6±1,0	-5,84 (-14,97; 3,29); P=0,203	-2,16 (-11,11; 6,79); P=0,627	2,73 (-4,51; 9,97); P=0,449
<b>IAS Carnes/ pescado</b>	A B	9,8±0,8 10,0±0,2	0,13 (-7,50; 7,76); P=0,972	-2,94 (-5,86; 11,74); P=0,502	1,74 (-2,59; 6,07); P=0,421
<b>IAS En lípidos</b>	A B	2,0±2,4 1,0±1,4	-279,8 (-732,7; 173,2); P=0,194	-129,7 (-411,0; 151,6); P=0,344	-57,05 (-160,9; 46,79); P=0,247
<b>IAS En AGS</b>	A B	3,0±3,2 1,4±1,9	-13,66 (-143,6; 116,3); P=0,828	73,04 (-12,91; 159,0); <b>P=0,091</b>	-27,38 (-133,4; 78,61); P=0,595
<b>IAS Colesterol</b>	A B	4,4±4,1 4,8±3,8	232,1 (-150,6; 614,7); P=0,214	137,9 (-227,3; 503,0); P=0,445	15,25 (-67,02; 97,51); P=0,706
<b>IAS Na Alimentos</b>	A B	8,7±2,8 7,2±4,1	-317,3 (-988,4; 353,9); P=0,330	-408,3 (-1282; 465,1); P=0,335	-263,7 (-847,3; 319,9); P=0,351
<b>IAS Variedad</b>	A B	4,1±2,9 2,4±2,5	-63,48 (-123,0; -4,02); <b>P=0,038</b>	-36,66 (-122,8; 49,47); P=0,391	-37,73 (-113,1; 37,67); P=0,305

Los datos corresponden a la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos



**Tabla 45.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en el perfil de **ácidos grasos del suero** (% del total de ácidos grasos) en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Laúrico</b> (12:0)	A (n=20) B (n=19)	0,02±0,02 0,03±0,04	0,03±0,03 0,02±0,01	0,03±0,02 0,02±0,02	0,03±0,04 0,03±0,05	0,300	0,480	0,472
<b>Palmitico</b> (16:0)	A (n=20) B (n=19)	14,08±3,15 13,95±4,37	13,85±3,23 13,42±3,19	14,31±3,30 13,74±3,79	13,61±3,55 13,86±3,57	0,795	0,966	0,629
<b>Palmitoleico</b> (16:1 ω-7)	A (n=20) B (n=19)	0,70±0,32 0,69±0,38	0,76±0,36 0,71±0,45	0,73±0,31 0,68±0,36	0,63±0,26 0,65±0,26	0,820	0,939	0,976
<b>Esteárico</b> (18:0)	A (n=20) B (n=19)	9,14±1,66 8,80±1,60	8,92±1,24 8,76±1,25	8,64±0,76 8,33±0,99	8,86±1,17 8,42±1,05	0,942	0,840	0,931
<b>Oleico</b> (18:1 ω-9)	A (n=20) B (n=19)	22,38±4,70 20,74±3,91	22,61±5,80 22,71±4,62	23,05±4,90 22,91±5,17	20,98±3,82 22,31±3,94	0,325	0,327	0,127
<b>α-Linoleico</b> (18:2 ω-6)	A (n=20) B (n=19)	26,24±4,85 28,14±3,58	26,26±4,65 26,70±4,34	26,28±4,35 27,63±4,27	27,75±5,03 24,69±7,32	0,342	0,467	0,151
<b>γ-Linolénico</b> (18:3 ω-6)	A (n=20) B (n=19)	0,29±0,14 0,21±0,11+	0,27±0,13 0,27±0,15	0,36±0,13 0,29±0,12	0,33±0,17 0,27±0,09	0,116	0,161	0,213
<b>α-Linolénico</b> (18:3 ω-3)	A (n=20) B (n=19)	0,18±0,09 0,18±0,09	0,20±0,11 0,20±0,07	0,23±0,13 0,22±0,14	0,21±0,10 0,21±0,15	0,926	0,740	0,769
<b>Áráquico</b> (20:0)	A (n=20) B (n=19)	0,43±0,08 0,40±0,14	0,42±0,12 0,40±0,08	0,38±0,13 0,38±0,10	0,43±0,08 0,41±0,10	0,938	0,836	0,854
<b>Araquidónico</b> (20:4 ω-6)	A (n=20) B (n=19)	6,68±2,31 6,76±2,75	6,71±2,50 6,69±2,54	6,94±2,02 7,08±2,12	6,76±2,42 7,32±1,97	0,903	0,934	0,862
<b>Eicosapentaenoico</b> (20:5 ω-3)	A (n=20) B (n=19)	0,44±0,24 0,47±0,26	0,45±0,29 0,84±0,63*	0,50±0,22 0,79±0,49*	0,58±0,27 0,66±0,34	<b>0,018</b>	<b>0,051</b>	<b>0,015</b>
<b>Docosapentaenoico</b> (22:5 ω-3)	A (n=20) B (n=19)	0,33±0,21 0,32±0,20	0,43±0,44 0,40±0,21	0,33±0,14 0,38±0,15	0,36±0,17 0,41±0,24	0,928	0,650*	0,592
<b>Docosahexaenoico</b> (22:6 ω-3)	A (n=20) B (n=19)	1,74±1,04 2,15±1,22	1,66±0,99 2,17±1,21	1,77±0,94 2,27±0,99	1,99±0,79 2,24±0,97	0,682	0,998	0,846

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas.

+Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001.

**Tabla 46.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en el perfil de ácidos grasos del suero (% total ácidos grasos) en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Laúrico</b> (12:0)	A B	0,02±0,02 0,03±0,04	79,99 (-152,7; 312,7); P=0,489	41,15 (-51,22; 133,5); P=0,370	-32,51 (-211,7; 146,7); P=0,714
<b>Palmítico</b> (16:0)	A B	14,08±3,15 13,95±4,37	-3,08 (-24,98; 18,82); P=0,777	-7,02 (-32,85; 18,81); P=0,577	-6,36 (-22,16; 9,43); P=0,418
<b>Palmitoleico</b> (16:1 ω-7)	A B	0,70±0,32 0,69±0,38	-1,30 (-50,05; 47,45); P=0,957	-6,40 (-37,47; 24,68); P=0,673	-4,40 (-29,84; 21,03); P=0,727
<b>Estéarico</b> (18:0)	A B	9,14±1,66 8,80±1,60	0,00 (-9,92; 9,93); P=0,999	0,77 (-12,12; 13,67); P=0,903	1,05 (-15,11; 17,21); P=0,896
<b>Oleico</b> (18:1 ω-9)	A B	22,38±4,70 20,74±3,91	-6,60 (-19,87; 6,68); P=0,320	-3,98 (-18,49; 10,54); P=0,581	-8,46 (-23,72; 6,81); P=0,267
<b>α-Linoleico</b> (18:2 ω-6)	A B	26,24±4,85 28,14±3,58	5,40 (-6,20; 17,00); P=0,351	-3,37 (-13,42; 6,69); P=0,500	16,79 (1,32; 32,26); <b>P=0,034</b>
<b>γ-Linolénico</b> (18:3 ω-6)	A B	0,29±0,14 0,21±0,11	-58,72 (-139,1; 21,61); P=0,142	-55,35 (-157,0; 46,30); P=0,275	-11,08 (-59,51; 37,36); P=0,644
<b>α-Linolénico</b> (18:3 ω-3)	A B	0,18±0,09 0,18±0,09	6,85 (-27,53; 41,23); P=0,688	4,13 (-53,75; 62,01); P=0,885	12,81 (-26,60; 52,22); P=0,512
<b>Áráquico</b> (20:0)	A B	0,43±0,08 0,40±0,14	1,00 (-14,62; 16,62); P=0,897	0,64 (-23,50; 24,78); P=0,957	3,60 (-15,24; 22,45); P=0,699
<b>Araquidónico</b> (20:4 ω-6)	A B	6,68±2,31 6,76±2,75	-11,23 (-58,61; 36,15; P=0,634)	-25,29 (-96,73; 46,15; p=0,148)	-19,61 (-70,87; 31,64; P=0,441)
<b>Eicosapentaenoico</b> (20:5 ω-3)	A B	0,44±0,24 0,47±0,26	-131,4 (-282,6; 19,73); <b>P=0,085</b>	-99,12(-246,0; 47,78); P=0,172	-99,12 (-229,8; 31,51); P=0,172
<b>Docosapentaenoico</b> (22:5 ω-3)	A B	0,33±0,21 0,32±0,20	23,86 (-91,79; 139,5); P=0,678	-8,54 (-68,64; 51,56); P=0,774	-13,48 (-92,14; 65,17); P=0,729
<b>Docosahexaenoico</b> (22:6 ω-3)	A B	1,74±1,04 2,15±1,22	15,74 (-93,64; 125,1); P=0,772	1,45 (-116,8; 119,8); P=0,980	51,33 (-61,53; 164,2); P=0,361

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos.

**Tabla 47.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados (% del total de los ácidos grasos) y cocientes  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 y linoleico/araquidónico y linolénico/eicosapentaenoico en el suero en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>AGS</b>	A (n=20)	33,94±4,02	33,96±3,02	32,55±3,66	33,41±4,02	0,598	0,428	0,580
% total ácidos grasos	B (n=19)	33,44±4,38	32,82±2,69	31,95±2,45	32,58±2,09			
<b>AGM</b>	A (n=20)	27,09±5,02	27,90±5,92	27,58±4,88	25,95±4,29	0,456	0,302	0,115
% total ácidos grasos	B (n=19)	26,62±4,51	28,19±5,13	27,23±4,60	26,96±3,96			
<b>AGP</b>	A (n=20)	38,00±5,42	38,15±6,19	38,75±6,05	40,63±6,24	0,783	0,880	0,734
% total ácidos grasos	B (n=19)	40,48±6,34	39,51±5,61	40,23±5,72	40,46±5,24			
<b>AGP <math>\omega</math>-6</b>	A (n=20)	33,64±5,35	33,78±5,75	34,15±5,61	35,87±6,06	0,663	0,885	0,724
% total ácidos grasos	B (n=19)	35,37±4,41	34,35±4,68	34,83±4,36	35,26±4,64			
<b>AGP <math>\omega</math>-3</b>	A (n=20)	2,62±1,37	2,62±1,25	2,76±1,17	2,95±1,01	0,354	0,741	0,555
% total ácidos grasos	B (n=19)	3,12±1,71	3,55±1,91+	3,85±1,80*	3,48±1,41			
<b>AGP <math>\omega</math>-6/AGP<math>\omega</math>-3</b>	A (n=20)	16,89±10,53	16,76±10,35	15,84±10,77	13,36±4,23	0,455	0,712	0,529
	B (n=19)	15,92±11,08	13,29±7,92	11,19±5,26	12,44±6,01			
<b>Linoleico/AA</b>	A (n=20)	4,67±2,61	4,49±1,91	4,10±1,33	5,56±6,27	0,502	0,722	0,359
	B (n=19)	5,39±3,90	4,61±1,96	4,55±1,78	3,93±1,23			
<b>Linolénico/EPA</b>	A (n=20)	0,50±0,29	0,62±0,44	0,55±0,42	0,42±0,24	<b>0,048</b>	0,230	0,333
	B (n=19)	0,60±0,69	0,35±0,23	0,42±0,42	0,37±0,22			

Los datos corresponden a la media  $\pm$  SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas. AGS, Ácidos grasos saturados; AGM, Ácidos grasos monoinsaturados; AGP, Ácidos grasos poliinsaturados, AA, araquidónico; EPA, eicosapentaenoico. +Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0.05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0.001.

**Tabla 48.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados (% total ácidos grasos) y cocientes  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 y linoleico/araquidónico y linolénico/eicosapentaenoico en el suero en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B , %)	Cuatro meses (A-B , %)	Seis meses (A-B , %)
<b>AGS</b> % total ácidos grasos	A	33,94±4,02	0,50 (-5,98; 10,98); P=0,554	2,00 (-7,22; 11,22); P=0,661	0,52 (-10,92; 11,96); P=0,927
	B	33,44±4,38			
<b>AGM</b> % total ácidos grasos	A	27,09±5,02	-4,21 (-13,48; 5,05); P=0,362	1,84 (-6,91; 10,59); P=0,671	-4,19 (-16,16; 7,78); P=0,481
	B	26,62±4,51			
<b>AGP</b> % total ácidos grasos	A	38,00±5,42	-0,03 (-10,57; 10,50); P=0,995	-2,94 (-15,55; 9,68); P=0,639	4,95 (-7,12; 17,01); P=0,410
	B	40,48±6,34			
<b>AGP <math>\omega</math>-6</b> % total ácidos grasos	A	33,64±5,35	1,39 (-8,60; 11,38); P=0,779	-2,30 (-14,73; 10,12); P=0,708	5,18 (-6,51; 16,87); P=0,374
	B	35,37±4,41			
<b>AGP <math>\omega</math>-3</b> % total ácidos grasos	A	2,62±1,37	-22,55 (-86,36; 41,26); P=0,478	-26,87 (-99,32; 45,58); P=0,456	12,97 (-50,69; 76,63); P=0,681
	B	3,12±1,71			
<b>AGP <math>\omega</math>-6/AGP <math>\omega</math>-3</b>	A	16,89±10,53	21,35 (-31,82; 74,52); P=0,421	13,75 (-24,54; 52,03); P=0,470	5,76 (-33,20; 44,72); P=0,765
	B	15,92±11,08			
<b>Linoleico/AA</b>	A	4,67±2,61	12,98 (-21,51; 47,67); P=0,450	-4,10 (-31,04; 22,85); P=0,759	28,13 (-12,58; 68,84); P=0,169
	B	5,39±3,90			
<b>Linolénico/EPA</b>	A	0,50±0,29	54,27 (-0,20; 108,7); <b>P=0,051</b>	18,67 (-35,21; 72,56); P=0,485	2,61 (-30,20; 35,42); P=0,872
	B	0,60±0,69			

Los datos corresponden la media  $\pm$  SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. AGS, Ácidos grasos saturados; AGM, Ácidos grasos monoinsaturados; AGP, Ácidos grasos poliinsaturados, AA, araquidónico; EPA, eicosapentaenoico. Los valores en negrita para  $p < 0,05$  son significativos; para  $p < 0,1 > 0,05$ , marginalmente significativos.

**Tabla 49.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en el perfil de **ácidos grasos del suero** (g/dL) en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Laúrico</b> (g/dL) (12:0)	A (n=20) B (n=19)	0,001±0,001 0,002±0,002	0,002 ±0,001 0,002 ±0,001	0,002±0,001 0,001±0,001	0,001±0,001 0,003±0,004	0,779	0,373	0,192
<b>Palmítico</b> (g/dL) (16:0)	A (n=20) B (n=19)	0,918±0,390 1,053±0,687	0,886±0,434 0,952±0,581	0,921±0,455 0,970±0,609	0,876±0,392 0,888±0,450	0,636	0,872	0,969
<b>Palmitoleico</b> (g/dL) (16:1ω-7)	A (n=20) B (n=19)	0,075±0,126 0,056±0,053	0,049±0,029 0,055±0,057	0,050±0,029 0,052±0,049	0,042±0,023 0,043±0,027	0,346	0,420	0,495
<b>Estéarico</b> (g/dL) (18:0)	A (n=20) B (n=19)	0,570±0,169 0,578±0,189	0,654±0,579 0,567±0,186	0,564±0,142 0,544±0,163	0,550±0,139 0,500±0,152	0,457	0,544	0,499
<b>Oleico</b> (g/dL) (18:1ω-9)	A (n=20) B (n=19)	1,436±0,561 1,511±0,865	1,313±0,545 1,554±0,768	1,525±0,556 1,508±0,668	1,292±0,432 1,364±0,445	0,470	0,164	0,308
<b>α-Linoleico</b> (g/dL) (18:2ω-6)	A (n=20) B (n=19)	1,681±0,580 1,935±0,949	1,569±0,774 1,750±0,710	1,738±0,577 1,792±0,612	1,760±0,661 1,687±0,614	0,797	0,725	0,557
<b>γ-Linolénico</b> (g/dL) (18:3ω-6)	A (n=20) B (n=19)	0,022±0,012 0,019±0,016	0,019±0,013 0,021±0,020	0,024±0,014 0,044±0,109	0,024±0,016 0,017±0,008	0,262	0,403	0,287
<b>α-Linolénico</b> (g/dL) (18:3ω-3)	A (n=20) B (n=19)	0,012±0,007 0,013±0,008	0,013±0,008 0,013±0,005	0,015±0,011 0,013±0,006	0,013±0,006 0,012±0,009	0,680	0,453	0,614
<b>Áráquico</b> (g/dL) (20:0)	A (n=20) B (n=19)	0,026±0,006 0,028±0,010	0,041±0,074 0,025±0,007	0,024±0,007 0,024±0,008	0,026±0,004 0,024±0,006	0,310	0,342	0,409
<b>Araquidónico</b> (g/dL) (20:4ω-6)	A (n=20) B (n=19)	0,421±0,192 0,450±0,219	0,382±0,192 0,427±0,190	0,452±0,173 0,449±0,145	0,459±0,180 0,439±0,152	0,622	0,623	0,747
<b>EPA</b> (g/dL) (20:5 ω-3)	A (n=20) B (n=19)	0,027±0,015 0,061±0,130	0,024±0,014 0,058±0,058*	0,033±0,018 0,055±0,029*	0,032±0,012 0,040±0,020	0,957	0,634	0,409
<b>DPA</b> (g/dL) (22:5 ω-3)	A (n=20) B (n=19)	0,020±0,011 0,020±0,010	0,026±0,029 0,026±0,017	0,021±0,008 0,025±0,008	0,022±0,009 0,024±0,011	0,917	0,742	0,810
<b>DHA</b> (g/dL) (22:6 ω-3)	A (n=20) B (n=19)	0,107±0,066 0,134±0,074	0,094±0,055 0,140±0,091+	0,114±0,064 0,147±0,058	0,119±0,055 0,132±0,048	0,367	0,719	0,663

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas. +Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001. AA, araquidónico; EPA, eicosapentaenoico, DPA, docosapentaenoico, DHA, docosahexaenoico.

**Tabla 50.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en el perfil de ácidos grasos del suero en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Laúrico</b> (g/dL) (12:0)	A B	0,001 ± 0.001 0,002 ± 0.002	-23,94 (100,8; 52,87); P=0,530	62,66 (-39,23; 164,54); P=0,219	-453,1 (1306,6; 400,4); P=0,272
<b>Palmitico</b> (g/dL) (16:0)	A B	0,918±0,390 1,053±0,687	6,49 (-34,52; 47,50); P=0,750	-17,67 (-76,22; 40,88); P=0,543	10,08 (-22,98; 43,15); P=0,539
<b>Palmitoleico</b> (g/dL) (16:1ω-7)	A B	0,075±0,126 0,056±0,053	10,55 (-62,38; 83,48); P=0,771	-21,56 (-88,63; 45,52); P=0,517	7,46 (-35,89; 50,81); P=0,729
<b>Estearico</b> (g/dL) (18:0)	A B	0,570±0,169 0,578±0,189	18,01 (-30,39; 66,40); P=0,455	-0,23 (-23,80; 23,35); P=0,985	13,22 (-11;23; 37,66); P=0,279
<b>Oleico</b> (g/dL) (18:1ω-9)	A B	1,436±0,561 1,511±0,865	-2,64 (-42,52; 37,24); P=0,894	2,63 (-24,59; 29,86); P=0,845	6,65 (-33,29; 46,60); P=0,737
<b>α-Linoleico</b> (g/dL) (18:2ω-6)	A B	1,681±0,580 1,935±0,949	6,43 (-36,03; 48,88); P=0,761	-4,82 (-34,40; 24,75); P=0,742	19,05 (-13,54; 51,63); P=0,243
<b>γ-Linolénico</b> (g/dL) (18:3ω-6)	A B	0,022±0,012 0,019±0,016	-37,01 (108,6; 34,53); P=0,301	-121,4 (305,4; 62,67); P=0,188	9,30 (-49,64; 68,25); P=0,750
<b>α-Linolénico</b> (g/dL) (18:3ω-3)	A B	0,012±0,007 0,013±0,008	3,41 (-50,80; 57,61); P=0,899	32,38 (-18,27; 83,03); P=0,202	32,34 (-9,53; 74,21); P=0,125
<b>Áráquico</b> (g/dL) (20:0)	A B	0,026±0,006 0,028±0,010	56,44 (-64,15; 177,0); P=0,349	3,89 (-16,78; 24,56); P=0,704	9,12 (-11,81; 30,03); P=0,382-
<b>Araquidónico</b> (g/dL) (20:4ω-6)	A B	0,421±0,192 0,450±0,219	-9,26 (-64,02; 45,51); P=0,734	-12,07 (-90,52; 66,39); P=0,756	18,87 (-34,69; 72,43); P=0,479
<b>Eicosapentaenoico</b> (g/dL) (20:5 ω-3)	A B	0,027±0,015 0,061±0,130	-60,71 (132,8; 11,36); <b>P=0,096</b>	-30,21 (122,1; 61,72); P=0,508	8,95 (-67,66; 85,56); P=0,814
<b>Docosapentaenoico</b> (g/dL) (22:5 ω-3)	A B	0,020±0,011 0,020±0,010	-49,27 (218;0; 119,5); P=0,558	-114,6 (351,7; 122,4); P=0,332	-18,61 (113,1; 75,92); P=0,691
<b>Docosahexaenoico</b> (g/dL) (22:6 ω-3)	A B	0,107±0,066 0,134±0,074	13,85 (123,1; 150,8); P=0,839	6,13 (-151,5; 163,8); P=0,937	68,28 (-53,85; 190,4); P=0,264

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos. EPA, eicosapentaenoico, DPA, docosapentaenoico, DHA, docosahexaenoico.

**Tabla 51.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados (g/dL) y cocientes $\omega$ -6 $\omega$ / $\omega$ -3 y linoleico/araquidónico y linolénico/eicosapentaenoico en el suero en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>AGS</b> (g/dL)	A (n=20)	1,52 $\pm$ 0,53	1,58 $\pm$ 0,88	1,51 $\pm$ 0,58	1,45 $\pm$ 0,51	0,418	0,773	0,884
	B (n=19)	1,66 $\pm$ 0,86	1,54 $\pm$ 0,76	1,54 $\pm$ 0,76	1,44 $\pm$ 0,60			
<b>AGM</b> (g/dL)	A (n=20)	1,51 $\pm$ 0,61	1,36 $\pm$ 0,57	1,58 $\pm$ 0,58	1,33 $\pm$ 0,45	0,398	0,167	0,332
	B (n=19)	1,57 $\pm$ 0,91	1,61 $\pm$ 0,82	1,56 $\pm$ 0,71	1,41 $\pm$ 0,47			
<b>AGP</b> (g/dL)	A (n=20)	2,29 $\pm$ 0,78	2,13 $\pm$ 0,97	2,40 $\pm$ 0,78	2,43 $\pm$ 0,86	0,927	0,700	0,414
	B (n=19)	2,63 $\pm$ 1,22	2,46 $\pm$ 0,95	2,52 $\pm$ 0,76	2,35 $\pm$ 0,75			
<b>AGP</b> $\omega$ -6 (g/dL)	A (n=20)	2,12 $\pm$ 0,72	1,97 $\pm$ 0,93	2,21 $\pm$ 0,72	2,24 $\pm$ 0,82	0,949	0,756	0,583
	B (n=19)	2,40 $\pm$ 1,12	2,20 $\pm$ 0,84	2,28 $\pm$ 0,75	2,14 $\pm$ 0,73			
<b>AGP</b> $\omega$ -3 (g/dL)	A (n=20)	0,17 $\pm$ 0,09	0,16 $\pm$ 0,08	0,18 $\pm$ 0,09	0,19 $\pm$ 0,07	0,522	0,541	0,392
	B (n=19)	0,23 $\pm$ 0,19	0,24 $\pm$ 0,17*	0,24 $\pm$ 0,09+	0,21 $\pm$ 0,08			

Los datos corresponden a la media  $\pm$  SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas. AGS, Ácidos grasos saturados; AGM, Ácidos grasos monoinsaturados; AGP, Ácidos grasos poliinsaturados. +Marginalmente significativo respecto a leche A ( $P < 0,1$ ); \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ .

**Tabla 52.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados (en g/dL) y cocientes  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 y linoleico/araquidónico y linolénico/eicosapentaenoico en el suero en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>AGS</b> (g/dL)	A	33,6±3,8	10,98 (-23,96; 45,92); P=0,528	-7,49 (-46,81; 31,84); P=0,701	11,17 (-17,81; 40,15); P=0,438
	B	33,6±4,4			
<b>AGM</b> (g/dL)	A	27,1±4,3	-3,70 (-44,02; 36,62); P=0,853	0,91 (-27,18;29,01); P=0,948	5,42 (-34,22; 45,07); P=0,783
	B	27,6±4,1			
<b>AGP</b> (g/dL)	A	38,8±5,3	-3,62 (-34,65; 27,41); P=0,814	-4,17 (-35,36; 27,01); P=0,787	15,95 (-11,81; 43,70); P=0,251
	B	39,4±5,2			
<b>AGP</b> $\omega$ -6 (g/dL)	A	34,6±5,1	-0,29 (-33,11; 32,53); P=0,986	-5,13 (-36,08; 25,81); P=0,738	15,78 (-12,42; 43,98); P=0,263
	B	34,8±4,1			
<b>AGP</b> $\omega$ -3 (g/dL)	A	2,5±1,1	-14,00 (-80,94; 52,94); P=0,674	1,43 (-81,68; 84,53); P=0,972	37,59 (-35,19; 110,37); P=0,301
	B	3,1±1,6			

Los datos corresponden a la media  $\pm$  SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. AGS, Ácidos grasos saturados; AGM, Ácidos grasos monoinsaturados; AGP, Ácidos grasos poliinsaturados. Los valores en negrita para  $p < 0,05$  son significativos; para  $p < 0,1 > 0,5$ , marginalmente significativos



**Tabla 53.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en hematíes, hematocrito, hemoglobina, plaquetas y otros marcadores en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Hematíes</b> millones/mm <sup>3</sup>	A (n=20)	4,52±0,47	4,49±0,43	4,53±0,45	4,56±0,53	0,237	0,618	0,596
	B (n=19)	4,64±0,47	4,58±0,47	4,60±0,51	4,60±0,45			
<b>Hematocrito</b> (%)	A (n=20)	41,62±3,65	41,42±3,73	41,49±3,93	41,68±4,33	0,150	0,474	0,589
	B (n=19)	42,30±4,11	41,43±3,76	41,48±4,16	41,66±3,94			
<b>Hemoglobina</b> g/dL	A (n=20)	14,11±1,32	14,04±1,35	14,12±1,40	14,17±1,50	0,371	0,707	0,694
	B (n=19)	14,35±1,39	14,23±1,33	14,17±1,33	14,33±1,30			
<b>VCM</b> fL	A (n=20)	92,36±3,91	92,30±3,57	91,63±3,80	91,56±3,65	0,411	0,458	0,783
	B (n=19)	91,19±4,03	90,62±3,80	90,38±3,65	90,74±4,21			
<b>HCM</b> pg	A (n=20)	31,23±1,24	31,28±1,50	31,19±1,31	31,15±1,23	0,465	0,883	0,791
	B (n=19)	30,93±1,56	31,13±1,44	30,90±1,41	31,24±1,38			
<b>CHCM</b> unidades	A (n=20)	33,83±0,57	33,87±0,72	34,03±0,39	34,01±0,74	0,236	0,446	0,764
	B (n=19)	33,92±0,76	34,35±0,74*	34,17±0,61	34,43±0,81			
<b>Plaquetas</b> miles/mm <sup>3</sup>	A (n=20)	221,9±54,2	221,2±55,5	223,2±55,5	230,9±59,9	0,778	0,770	0,960
	B (n=19)	217,0±44,9	214,5±46,5	226,7±50,9	223,2±56,8			

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas. VCM, volumen corpuscular medio; HCM, hemoglobina corpuscular media; +Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0.05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0.001.

**Tabla 54.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en hematíes, hematocrito, hemoglobina, plaquetas y otros marcadores en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Hematíes</b> millones/mm <sup>3</sup>	A	4,52±0,47	2,00 (-1,35; 5,36); P=0,233	0,88 (-3,21; 4,97); P=0,666	1,73 (-1,64;5,10); P=0,305
	B	4,64±0,47			
<b>HTO</b> (%)	A	41,62±3,65	2,39 ( -1,03; 5,82); P=0,165	1,15 (-2,86; 5,17); P=0,563	1,70 (-1,75;5,14); P=0,324
	B	42,30±4,11			
<b>Hemoglobina</b> g/dL	A	14,11±1,32	1,37 (-1,85; 4,60); P=0,393	0,73 ( -2,93; 4,39); P=0,689	0,62 (-2,40; 3,64); P=0,681
	B	14,35±1,39			
<b>VCM</b> fL	A	92,36±3,91	0,43 (-0,60; 1,45); P=0,402	0,23 (-0,78; 1,23); P=0,652	-0,07 (-1,38; 1,23); P=0,909
	B	91,19±4,03			
<b>HCM</b> pg	A	31,23±1,24	-0,55 (-1,93; 0,83); P=0,423	-0,05 (-1,50; 1,41); P=0,949	-0,99 (-3,00; 1,01); P=0,322
	B	30,93±1,56			
<b>CHCM</b> unidades	A	33,83±0,57	-1,04 (-2,77; 0,69); P=0,232	-0,28 (-1,67; 1,11); P=0,683	-1,00 (-3,11; 1,11); P=0,343
	B	33,92±0,76			
<b>Plaquetas</b> miles/mm <sup>3</sup>	A	221,9±54,2	0,66 (-9,94; 11,25); P=0,900	-1,74 (-12,39; 8,91); P=0,741	0,40 (-13,94; 14,74); 0,955
	B	217,0±44,9			

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos. VCM, volumen corpuscular medio; HCM, hemoglobina corpuscular media; CHCM, .....; ADE, .....

**Tabla 55.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en el recuento y diferentes tipos de leucocitos (% y cantidades absolutas) en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Leucocitos</b> miles/mm <sup>3</sup>	A (n=20) B (n=19)	6,71±1,06 6,68±1,90	7,02±1,64 6,40±1,65	6,92±1,37 6,51±1,57	6,78±1,68 6,48±1,60	<b>0,096</b>	0,475	0,702
<b>Neutrófilos</b> miles/mm <sup>3</sup>	A (n=20) B (n=19)	3,64±0,90 3,85±1,48	3,97±1,44 3,52±1,03	3,77±1,13 3,62±0,97	3,89±1,15 3,68±1,19	<b>0,051</b>	0,312	0,481
<b>Neutrófilos</b> (%)	A (n=20) B (n=19)	53,92±7,84 56,75±7,91	55,25±10,60 55,08±7,19	53,83±7,07 55,62±6,70	57,04±9,43 56,22±7,62	0,214	0,635	0,608
<b>Linfocitos</b> miles/mm <sup>3</sup>	A (n=20) B (n=19)	2,28±0,55 2,05±0,69	2,26±0,59 2,17±0,76	2,35±0,57 2,15±0,72	2,16±0,77 2,10±0,59	0,499	0,805	0,760
<b>Linfocitos</b> (%)	A (n=20) B (n=19)	34,33±7,36 31,47±8,04	33,38±9,58 33,36±6,21	34,52±8,02 32,97±6,63	31,84±7,96 31,89±6,77	0,236	0,637	0,720
<b>Monocitos</b> miles/mm <sup>3</sup>	A (n=20) B (n=19)	0,56±0,14 0,56±0,25	0,55±0,14 0,51±0,19	0,55±0,15 0,52±0,14	0,51±0,19 0,51±0,15	0,442	0,768	0,733
<b>Monocitos</b> (%)	A (n=20) B (n=19)	8,17±1,68 8,45±2,53	7,80±1,75 7,92±2,08	8,07±1,49 8,18±1,75	7,53±1,86 7,94±1,82	0,904	0,945	0,895
<b>Eosinófilos</b> miles/mm <sup>3</sup>	A (n=20) B (n=19)	0,19±0,12 0,17±0,14	0,19±0,09 0,19±0,14	0,20±0,11 0,16±0,13	0,20±0,15 0,20±0,16	0,664	0,524	0,708
<b>Eosinófilos</b> (%)	A (n=20) B (n=19)	2,83±1,51 2,67±2,12	2,66±1,35 3,01±2,36	2,86±1,32 2,54±1,76	2,89±1,88 3,25±2,62	0,284	0,313	0,523
<b>Basófilos</b> (%)	A (n=20) B (n=19)	0,73±0,48 0,65±0,26	0,91±0,85 0,64±0,17	0,72±0,54 0,70±0,29	0,70±0,40 0,68±0,50	0,411	0,300	0,352

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas. La cantidad absoluta y relativa de basófilos fue 0 y 0%, respectivamente. +Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0.05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0.001.

**Tabla 56.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en los diferentes tipos de leucocitos (% y cantidades absolutas) en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	<b>Leche</b>	<b>Basal</b>	<b>Dos meses (A-B, %)</b>	<b>Cuatro meses (A-B, %)</b>	<b>Seis meses (A-B, %)</b>
<b>Leucocitos</b> miles/mm <sup>3</sup>	A	6,71±1,06	7,63 (-3,20; 18,45); P=0,162	2,25 (-11,44; 15,94); p=0,739	1,02 (-11,98; 14,03); P=0,874
	B	6,68±1,90			
<b>Neutrófilos</b> número/mm <sup>3</sup>	A	3,64±0,90	13,40 (-4,59; 31,40); P=0,140	2,48 (-16,67; 21,62); P=0,795	7,48 (-9,27;24,22); P=0,371
	B	3,85±1,48			
<b>Neutrófilos</b> (%)	A	53,92±7,84	4,77 (-3,78; 13,31); P=0,265	1,19 (-6,76; 9,14); P=0,910	5,35 (-2,29; 13,00); P=0,162
	B	56,75±7,91			
<b>Linfocitos</b> miles/mm <sup>3</sup>	A	2,28±0,55	-6,40 (-24,28; 11,48); P=0,473	-2,55 (-16,85; 11,75); P=0,719	-5,45 (-19,69; 8,80); P=0,443
	B	2,05±0,69			
<b>Linfocitos</b> (%)	A	34,33±7,36	-13,94 (-34,22; 6,34); P=0,172	-8,85 (-28,63; 10,93); P=0,370	-7,44 (-20,05; 5,17); P=0,239
	B	31,47±8,04			
<b>Monocitos</b> miles/mm <sup>3</sup>	A	0,56±0,14	2,72 (-13,55; 19,00); P=0,736	-3,40 (-22,53; 15,72); P=0,719	-11,74 (-31,52; 8,05); P=0,237
	B	0,56±0,25			
<b>Monocitos</b> (%)	A	8,17±1,68	-1,66 (-16,75; 13,43); P=0,825	-0,79 (-13,77; 12,20); P=0,903	-6,40 (-18,99; 6,18); P=0,309
	B	8,45±2,53			
<b>Eosinófilos</b> miles/mm <sup>3</sup>	A	0,19±0,12	-8,96 (-51,03; 33,11); P=0,667	14,63 (-26,47; 55,73); P=0,474	-20,96 (-71,31; 29,39); P=0,402
	B	0,17±0,14			
<b>Eosinófilos</b> (%)	A	2,83±1,51	-26,94 (-62,25; 8,37); P=0,130	6,37 (-18,27; 31,01); P=0,603	-32,28 (-72,91; 8,36); P=0,116
	B	2,67±2,12			
<b>Basófilos</b> (%)	A	0,73±0,48	18,46 (-30,58; 67,50); P=0,450	-5,79 (-49,22; 37,65); P=0,788	-20,43 (-88,21; 47,34); P=0,544
	B	0,65±0,26			

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos. NO se muestra el cambio de basófilos por ser en todos los casos 0.

**Tabla 57.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en proteínas plasmáticas en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Ácido Úrico</b> g/L	A (n=20)	35,4±15,1	34,5±13,7	36,3±16,4	32,9±13,5	0,873	0,910	0,712
	B (n=19)	30,5±7,3	29,9±6,3	30,3±6,1	29,6±5,6			
<b>Creatina</b> mg/dL	A (n=20)	0,87±0,34	0,85±0,34	0,85±0,34	0,80±0,32	0,924	0,902	0,963
	B (n=19)	0,78±0,13	0,77±0,15	0,75±0,14	0,73±0,15			
<b>Cisteína</b> unidades	A (n=20)	244,2±52,9	254,7±41,7	254,5±52,0	242,7±65,9	0,397	0,806	0,680
	B (n=19)	230,8±51,8	234,1±47,2	221,8±46,4+	241,6±44,6			
<b>Proteínas totales</b> g/dL	A (n=20)	7,1±0,5	7,1±0,5	7,1±0,5	7,1±0,4	0,441	0,813	0,578
	B (n=19)	7,2±0,4	7,1±0,3	7,2±0,4	7,1±0,3			
<b>Albúmina</b> g/dL	A (n=20)	4,6±0,3	4,6±0,3	4,6±0,3	4,6±0,2	0,407	0,859	0,506
	B (n=19)	4,7±0,3	4,6±0,3	4,6±0,3	4,6±0,3			
<b>Bilirrubina total</b> mg/dL	A (n=20)	0,55±0,20	0,57±0,21	0,51±0,15	0,50±0,28	0,354	0,408	0,270
	B (n=19)	0,57±0,31	0,51±0,18	0,49±0,22	0,48±0,29			

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas. BT, bilirrubina total. +Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0.05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0.001.

**Tabla 58.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en algunas proteínas plasmáticas en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Ácido Úrico</b> g/L	A	35,4±15,1	1,71 (-12,75; 16,17); P=0,812	0,91 (-11,97; 13,79); P=0,887	-3,55 (-18,69; 11,60); P=0,637
	B	30,5±7,3			
<b>Creatina</b> mg/dL	A	0,87±0,34	1,03 (-4,85; 6,91); P=0,724	1,70 (-6,22; 9,63); P=0,666	2,49 (-5,81; 10,78); P=0,546
	B	0,78±0,13			
<b>Cisteína</b> unidades	A	244,2±52,9	3,31 (-3,99; 10,61); P=0,789	2,60 (-6,93; 12,13); P=0,583	-0,22 (-15,87; 15,43); P=0,977
	B	230,8±51,8			
<b>Proteínas totales</b> g/dL	A	7,1±0,5	1,00 (-1,82; 3,81); P=0,478	0,64 (-2,49; 3,77); P=0,680	1,61 (-1,26; 4,48); P=0,262
	B	7,2±0,4			
<b>Albúmina</b> g/dL	A	4,6±0,3	0,99 (-1,48; 3,45); P=0,422	0,60 (-2,53; 3,72); P=0,701	1,93 (-1,10; 4,96); P=0,204
	B	4,7±0,3			
<b>Bilirrubina total</b> mg/dL	A	0,55±0,20	7,18 (-20,86; 35,22); P=0,607	9,85 (-16,31; 36,00); P=0,450	6,58 (-14,82; 27,97); P=0,536
	B	0,57±0,31			

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos.

**Tabla 59.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en marcadores de funcionalidad/daño hepático transaminasas, fosfatasa alcalina del suero en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>GOT (ALT)</b> UI/L	A (n=20)	18,4±4,4	20,7±11,6	18,5±5,1	18,6±4,3	0,424	0,482	0,571
	B (n=19)	19,3±8,0	19,5±6,7	19,3±5,2	19,0±6,4			
<b>GPT (AST)</b> UI/L	A (n=20)	17,9±7,5	19,3±10,3	16,9±7,3	19,8±9,3	0,322	0,508	0,480
	B (n=19)	20,6±13,4	19,1±8,3	19,3±7,5	19,9±8,7			
<b>GOT/GPT</b>	A (n=20)	1,16±0,39	1,17±0,38	1,23±0,48	1,06±0,32	0,876	0,467	0,336
	B (n=19)	1,04±0,22	1,07±0,16	1,05±0,18	1,01±0,22			
<b>γ-GT</b> UI/L	A (n=20)	16,3±10,6	17,0±10,5	18,4±14,8	17,6±13,4	0,454	0,511	0,554
	B (n=19)	13,7±6,3	15,5±9,4	14,9±7,7	13,9±5,3			
<b>Fosfatasa alcalina</b> UI/L	A (n=20)	64,7±20,6	65,0±21,3	69,9±23,4	64,7±21,3	0,229	0,469	0,416
	B (n=19)	59,3±12,9	56,8±11,9	59,6±13,9	58,4±12,1			
<b>GOT/Fosfatasa alcalina</b>	A (n=20)	0,31±0,12	0,35±0,17	0,29±0,10	0,32±0,13	0,614	0,470	0,432
	B (n=19)	0,33±0,13	0,35±0,11	0,34±0,11	0,33±0,11			

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas. BT, bilirrubina total. +Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0.05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0.001.

**Tabla 60.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en transaminasas, fosfatasa alcalina del suero en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>GOT (ALT)</b> g/L	A	18,4±4,4	6,51 (-17,60; 30,63); P=0,587	-4,59 (-18,97; 9,78); P=0,521	0,42 (-14,46; 15,31); P=0,954
	B	19,3±8,0			
<b>GPT (AST)</b> UI/L	A	17,9±7,5	7,16 (-12,67; 27,00); P=0,469	-11,61 (-32,28; 9,05); P=0,262	2,42 (-26,42; 31,26); P=0,866
	B	20,6±13,4			
<b>GOT/GPT</b>	A	1,16±0,39	-1,73 (-15,05; 11,60); P=0,794	6,26 (-11,62; 24,13); P=0,482	5,65 (-12,2; 17,85); P=0,200
	B	1,04±0,22			
<b>γ-GT</b> UI/L	A	16,3±10,6	-3,08 (-17,84; 11,67); P=0,672	2,66 (-12,83; 18,15); P=0,729	2,41 (-9,70; 14,52); P=0,689
	B	13,7±6,3			
<b>Fosfatasa Alcalina</b> UI/L	A	64,7±20,6	3,85 (-3,23; 10,93); P=0,278	3,30 (-5,49; 12,09); P=0,451	4,71 (-3,66; 13,08); P=0,261
	B	59,3±12,9			
<b>GOT/Fosfatasa Alcalina</b>	A	0,31±0,12	2,56 (-24,61; 29,72); P=0,850	-6,94 (-22,98; 9,10); P=0,386	-6,72 (-22,64; 9,22); P=0,398
	B	0,33±0,13			

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos.



**Tabla 61.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en minerales del suero en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	<b>Leche</b>	<b>Basal</b>	<b>Dos meses</b>	<b>Cuatro meses</b>	<b>Seis meses</b>	<b>Efecto global 2 meses</b>	<b>Efecto global 4 meses</b>	<b>Efecto global 6 meses</b>
<b>Calcio</b> mg/dL	A (n=20)	9,3±0,3	9,5±0,3	9,3±0,3	9,3±0,3	0,123	0,253	0,374
	B (n=19)	9,4±0,4	9,3±0,4	9,4±0,4	9,3±0,4			
<b>Fósforo</b> Mg/dL	A (n=20)	3,7±0,4	3,9±0,5	3,8±0,5	3,7±0,5	<b>0,002</b>	<b>0,010</b>	<b>0,090</b>
	B (n=19)	3,7±0,5	3,5±0,6*	3,7±0,7	3,5±0,5			
<b>Potasio</b> mEq/L	A (n=20)	4,6±0,4	4,6±0,3	4,6±0,4	4,6±0,3	0,548	0,847	0,883
	B (n=19)	4,5±0,3	4,5±0,3	4,5±0,3	4,6±0,3			
<b>Sodio</b> mEq/L	A (n=20)	142,2±1,2	141,4±1,6	141,7±2,0	141,1±1,9	0,959	0,949	0,915
	B (n=19)	142,4±2,1	141,6±1,6	141,8±1,9	141,5±2,3			
<b>Cloro</b> mEq/L	A (n=20)	108,0±1,8	107,0±2,3	107,3±2,7	106,3±2,7	0,270	0,453	0,535
	B (n=19)	107,5±1,5	107,4±1,9	106,5±2,6	106,2±2,2			

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas.

+Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001.

**Tabla 62.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en minerales del suero en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Calcio</b> mg/dL	A	9,3±0,3	2,08 (-0,54; 4,70); P=0,115	-0,22 (-3,33; 2,89); P=0,885	0,83 (-1,91; 3,57); P=0,544
	B	9,4±0,4			
<b>Fósforo</b> mg/dL	A	3,7±0,4	11,19 (4,58; 17,81); <b>P=0,002</b>	1,30 (-5,89; 8,50); P=0,716	3,81 (-3,50; 11,11); P=0,296
	B	3,7±0,5			
<b>Potasio</b> mEq/L	A	4,6±0,4	1,88 (-3,65; 7,40); P=0,495	1,35 (-3,98; 6,67); P=0,611	1,37 (-4,22; 6,95); P=0,622
	B	4,5±0,3			
<b>Sodio</b> mEq/L	A	142,2±1,2	0,01 (-0,80; 0,82); P=0,980	0,04 (-0,91; 0,99); P=0,931	0,02 (-0,65; 0,68); P=0,961
	B	142,4±2,1			
<b>Cloro</b> mEq/L	A	108,0±1,8	-0,82 (-2,31; 0,66) ; P=0,270	0,25 (-1,24; 1,74); P=0,737	-0,36 (-1,77; 1,05); P=0,607
	B	107,5±1,5			

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos.

**Tabla 63.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en biomarcadores inflamatorios y de daño mucosal en los voluntarios consumiendo leche A ó B.

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Proteína C Reactiva</b> µg/mL	A (n=20)	0,17±0,21	0,12±0,13	0,14±0,25	0,19±0,21	0,847	0,850	0,674
	B (n=19)	0,22±0,52	0,19±0,24	0,18±0,30	0,17±0,22			
<b>TNFα</b> pg/mL	A (n=20)	11,38±29,96	8,86±16,35	7,08±13,56	11,12±26,86	0,370	0,184	0,295
	B (n=19)	16,52±42,38	16,73±42,63	9,92±19,19	17,24±33,01			
<b>IL-6</b> pg/mL	A (n=20)	8,28±17,64	5,13±12,12	6,97±14,37	6,68±14,57	0,801	0,136	0,237
	B (n=19)	39,12±116,23	33,60±97,38	20,27±64,78	39,90±109,35			
<b>IL-2</b> pg/mL	A (n=20)	184,6±57,8	253,5±106,6	249,1±98,7	207,8±70,1	0,108	0,150	0,340
	B (n=19)	196,1±49,2	225,2±55,2	210,4±59,5	195,7±34,9			
<b>Antiendomiso</b> uUI/L	A (n=20)	87,3±57,0	97,1±107,9	84,9±84,0	103,5±127,0	0,664	0,594	0,596
	B (n=19)	160,3±138,6*	156,3±153,6	156,6±163,0	161,6±162,6			
<b>Transglutaminasa</b> IU/L	A (n=20)	9,0±19,3	6,6±13,7	7,1±14,3	10,5±28,7	0,318	0,325	0,292
	B (n=19)	4,9±5,1	4,2±3,7	4,1±3,7	3,7±3,4			
<b>IgA<sub>2</sub></b> mg/dL	A (n=20)	230,6±80,7	235,7±88,0	232,6±87,1	232,6±85,0	<b>0,043</b>	<b>0,057</b>	0,114
	B (n=19)	238,1±86,8	222,5±91,5	255,7±98,8	249,3±90,8			

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas.

+Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001. TNFα, factor de necrosis tumoral alfa; IL, interleukina; IgA<sub>2</sub>, antgliadina A<sub>2</sub>.

**Tabla 64.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en biomarcadores inflamatorios y de daño mucosal en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Proteína C Reactiva</b> µg/mL	A	0,17±0,21	-31,82 (-85,50;21,86); P=0,237	1,69 (-45,52; 48,90); P=0,942	7,33 (-49,23; 63,88); P=0,794
	B	0,22±0,52			
<b>TNFα</b> pg/mL	A	11,38±29,96	161,6 (-251,8; 575,1); P=0,433	85,59 (-161,0; 332,2); P=0,485	581,0 (-641,0; 1802,9); P=0,340
	B	16,52±42,38			
<b>IL-6</b> pg/mL	A	8,28±17,64	-11,67 (-142,7; 119,3); P=0,858	49,07 (-157,0; 255,1); P=0,631	24,79 (-92,36; 141,9); P=0,670
	B	39,12±116,23			
<b>IL-2</b> pg/mL	A	184,6±57,8	20,78 (-9,69; 51,26); P=0,175	19,15 (-1,40; 39,69); <b>P=0,067</b>	5,09 (-11,16; 21,34); P=0,528
	B	196,1±49,2			
<b>Antiendomiso</b> IU/L	A	87,3±57,0	-6,25 (-66,17; 53,67); P=0,834	8,27 (-48,29; 64,84); P=0,768	20,33 (-37,09; 77,74); P=0,476
	B	160,3±138,6			
<b>Transglutaminasa</b> IU/L	A	9,0±19,3	-15,10 (-39,68; 9,47); P=0,218	-3,98 (-26,32; 18,36); P=0,718	43,22 (-55,60; 142,0); P=0,379
	B	4,9±5,1			
<b>IgA<sub>2</sub></b> mg/dL	A	230,6±80,7	10,21 (0,11;20,31); <b>P=0,048</b>	-1,25 (-12,95; 10,45); P=0,829	4,44 (-7,28; 16,16); P=0,446
	B	238,1±86,8			

Los datos corresponden la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos. TNFα, factor de necrosis tumoral alfa; IL, interleukina; IgA<sub>2</sub>, antgliadina A<sub>2</sub>.

**Tabla 65.** Cambios a los 2, 4 y 6 meses en los lípidos y lipoproteínas, glucosa, TyG y homocisteína en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses	Cuatro meses	Seis meses	Efecto global 2 meses	Efecto global 4 meses	Efecto global 6 meses
<b>Colesterol</b> mg/dL	A (n=20) B (n=19)	190,4±33,4 180,1±32,6	190,3±34,1 176,7±31,3	184,9±26,8 180,9±29,1	186,8±31,9 180,5±35,2	0,480	0,246	0,077
<b>LDLc</b> mg/dL	A (n=20) B (n=19)	120,4±30,7 102,9±31,7+	118,0±32,1 100,2±31,1+	115,3±24,7 103,8±30,0	115,2±30,1 104,7±36,2	0,939	0,369	0,085
<b>HDLc</b> mg/dL	A (n=20) B (n=19)	55,9±12,5 62,6±12,4+	57,6±11,2 60,1±12,4	55,2±10,1 62,6±11,2+	57,1±10,6 60,9±12,3	<b>0,065</b>	0,142	0,212
<b>Triglicéridos</b> mg/dL	A (n=20) B (n=19)	71,2±34,9 72,6±36,7	73,4±37,9 81,7±46,2	72,6±30,6 72,4±28,5	69,1±25,9 74,7±30,2	0,555	<b>0,065</b>	0,661
<b>CT/HDLc</b>	A (n=20) B (n=19)	3,54±0,83 2,99±0,85*	3,39±0,73 3,09±0,96	3,44±0,67 3,01±0,84+	3,34±0,67 3,10±0,95	<b>0,061</b>	0,154	0,215
<b>LDLc/HDLc</b>	A (n=20) B (n=19)	2,25±0,70 1,74±0,76*	2,11±0,65 1,79±0,81+	2,16±0,57 1,76±0,74+	2,08±0,59 1,83±0,87	<b>0,066</b>	0,202	0,203
<b>TG/HDLc (molar)</b>	A (n=20) B (n=19)	0,63±0,45 0,54±0,32	0,61±0,40 0,66±0,47	0,61±0,32 0,54±0,27	0,55±0,28 0,57±0,29	0,264	0,343	0,256
<b>Glucosa</b> mg/dL	A (n=20) B (n=19)	94,1±13,1 88,1±10,2	95,8±13,7 86,4±8,8*	92,3±13,2 89,8±7,8	96,1±20,7 89,5±6,2	0,225	0,063	0,355
<b>TyG</b>	A (n=20) B (n=19)	7,99±0,47 7,99±0,51	7,98±0,50 8,07±0,58	7,96±0,44 8,02±0,44	8,05±0,45 8,04±0,39	0,468	0,666	0,491
<b>Homocisteína</b> μmol/L	A (n=20) B (n=19)	6,37±2,33 6,68±2,01	6,87±2,17 5,65±1,57*	7,07±2,90 5,39±1,41*	6,57±2,96 5,97±1,73	<b>0,001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,005</b>

Los datos corresponden a la media ± SD; N, número de voluntarios. El efecto global se refiere a las diferencias obtenidas mediante ANOVA de medidas repetidas.

CT/HDLc cociente colesterol total/HDLc; HDLc, colesterol transportado por las HDL; LDLc, colesterol transportado por las LDL; TG/HDLc, cociente molar de triglicéridos/HDL colesterol; TyG, índice triglicéridos-glucosa +Marginalmente significativo respecto a leche A (P<0,1); \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001.

**Tabla 66.** Tasa de cambio (%) a los 2, 4 y 6 meses en los lípidos y lipoproteínas, glucosa, TyG y homocisteína en los voluntarios consumiendo leche A ó B

	Leche	Basal	Dos meses (A-B, %)	Cuatro meses (A-B, %)	Seis meses (A-B, %)
<b>Colesterol</b> mg/dL	A	190,4±33,4	1,94 (-3,34; 7,22); P=0,461	-2,33 (-8,02; 3,37); P=0,413	-2,82 (-9,06; 3,42); P=0,365
	B	180,1±32,6			
<b>LDLc</b> mg/dL	A	120,4±30,7	0,29 (-8,71; 9,30); P=0,948	-4,05 (-12,90; 4,81); P=0,360	-5,95 (-16,66; 4,76); P=0,267
	B	102,9±31,7+			
<b>HDLc</b> mg/dL	A	55,9±12,5	8,50 (-0,08; 17,07); <b>P=0,052</b>	0,53 (-9,47; 10,53); P= 0,915	4,07 (-5,15; 13,29); P=0,376
	B	62,6±12,4+			
<b>Triglicéridos</b> mg/dL	A	71,2±34,9	-2,38 (-30,82; 26,05); P=0,866	-3,40 (-24,69; 17,89); P=0,748	-1,27 (-34,29; 31,76); P=0,938
	B	72,6±36,7			
<b>CT/HDLc</b>	A	3,54±0,83	-6,61 (-14,22; 1,00); <b>P=0,087</b>	-3,56 (-10,81; 3,68); P=0,325	5,53 (-14,37; 1,90); P=0,129
	B	2,99±0,85*			
<b>LDLc/HDLc</b>	A	2,25±0,70	-8,79 (-19,78; 2,20); P=0,114	-6,04 (-17,50; 5,43); P=0,293	-9,71 (-22,86; 3,43); P=0,142
	B	1,74±0,76*			
<b>TG/HDLc</b>	A	0,63±0,45	-10,45 (-46,58; 25,68); P=0,562	-3,91 (-31,52; 23,69); P=0,775	0,79 (-36,59; 38,17); P=0,966
	B	0,54±0,32			
<b>Glucosa</b> mg/dL	A	94,1±13,1	3,30 (-2,91; 9,51); P=0,289	-4,88 (-12,12; 2,36); P=0,180	2,54 (-7,14; 12,22); P=0,598
	B	88,1±10,2			
<b>TyG</b>	A	7,99±0,47	0,692 (-0,953; 2,337); P=0,871	0,396 (-0,922; 1,71); P=0,461	0,837 (-1,01; 2,68); P=0,963
	B	7,99±0,51			
<b>Homocisteína</b> μmol/L	A	6,37±2,33	23,20 (12,70; 33,69); <b>P=0,0001</b>	25,20 (12,66; 37,74); <b>P=0,001</b>	15,48 (-1,43 ; 32,39); <b>P=0,071</b>
	B	6,68±2,01			

Los datos corresponden a la media ± SD y a la diferencia de medias con su CV 95% de individuos para la leche A y para la leche B. Los valores en negrita para p<0,05 son significativos; para p<0,1->0,5, marginalmente significativos. CT/HDLc cociente colesterol total/HDLc; HDLc, colesterol transportado por las HDL; LDLc, colesterol transportado por las LDL; TG/HDLc, cociente molar de triglicéridos/HDL colesterol; TyG, índice triglicéridos-glucosa.



## **5.DISCUSION**





## 5. DISCUSIÓN

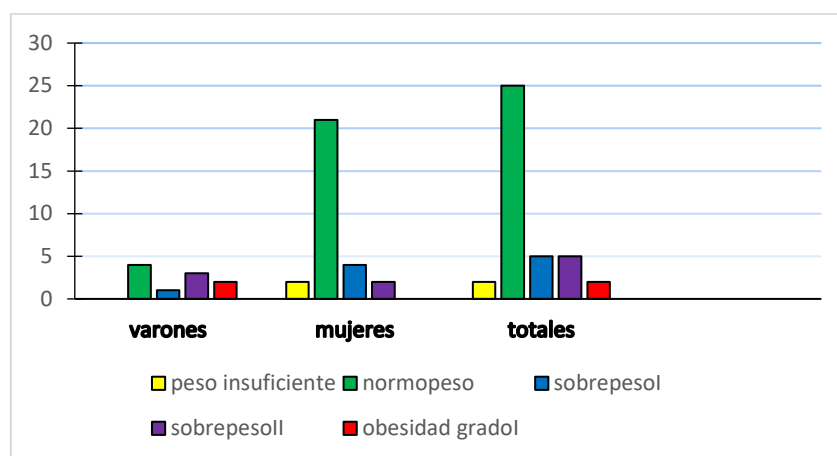
La EC es una afección cuya prevalencia e incidencia es cada vez mayor. Actualmente se estima que la prevalencia mundial de EC es 1/266. España se encuentra entre 1/118 en la población infantil y 1/389 en la población adulta. Estos datos se refieren a la EC sintomática, pero dado que un porcentaje importante de casos permanecen sin diagnosticar, se estima que la prevalencia pueda ser mucho mayor (Gil Hernández A y col., 2010).

Con el transcurrir de los años se han apreciado cambios significativos en la prevalencia de la EC, pues debe tenerse en cuenta que ésta es el resultado de la interacción de un condicionamiento genético con factores ambientales (Polanco Allue I y col., 2008). Así los cambios en la alimentación, el tiempo de lactancia materna, la menor antigenicidad de las fórmulas lácteas y la introducción tardía del gluten pueden explicar, por un lado, un descenso aparente en la incidencia de la EC y, por otro, la aparición de formas atípicas de EC en niños mayores y adolescentes (Gil Hernández, A y col., 2010).

Según varios autores como Rodrigo L y col. (2008) la prevalencia de EC es mayor en mujeres que en varones, aunque las razones de estas diferencias no son bien conocidas, otros autores coinciden en la mayor prevalencia (2,31:1) en las mujeres como es el caso del estudio del Centro de Salud Ontinyent-II, Ontinyent, Valencia, España (Navalon-Ramon E y col., 2015)

En nuestro estudio (The Celiac Inflammatory Biomarkers Omega Milk study, estudio CIBOM), participaron aproximadamente tres veces más mujeres que varones (29 vs 10, respectivamente), lo que sugiere de acuerdo con Vaquero L y col. (2015) que cada vez son más los casos de EC diagnosticados en la edad adulta y más frecuentemente en mujeres (**Tablas 17 y 20**). La edad media de la población fue de 34,5 años, correspondiendo una media para las mujeres de 34,8 años y de 33,7 años para los varones. El peso medio y La talla e IMC de los varones fue de 78,8 kg y 1,75 m, y 25,8 kg/m<sup>2</sup>; en el caso de las mujeres de 60,1 kg y 1,61 m y 22,83 kg/m<sup>2</sup>, respectivamente (**Tabla 17**).

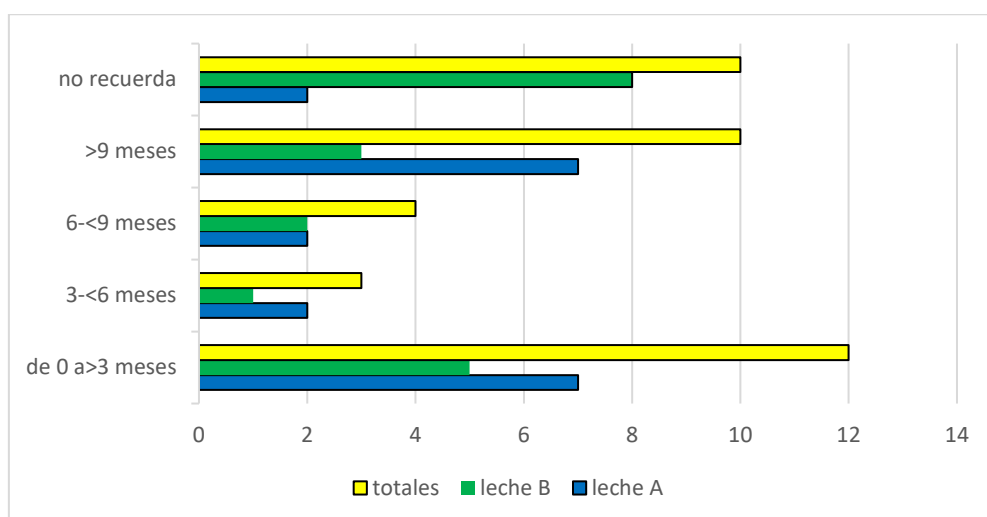
Aproximadamente 2/3 de los voluntarios eran normopeso (IMC entre 18,5 y 24,99 kg/m<sup>2</sup>). Siendo más frecuente el porcentaje de individuos con sobrepeso tipo II y obesidad tipo I entre los varones (50% vs 24,1% en las mujeres) (**Figura 23**).



**Figura 23.** Distribución de los voluntarios atendiendo al IMC. Peso insuficiente, <18,5 kg/m<sup>2</sup>; peso normal, 18.5-24,99 kg/m<sup>2</sup>; sobrepeso tipo I, 25-26,99 kg/m<sup>2</sup>; sobrepeso tipo I, 27-29,99 kg/m<sup>2</sup>; obesidad tipo I, 30-34,99 kg/m<sup>2</sup>.

## 5.1 Anamnesis de los voluntarios.

Algunos marcadores (lactancia materna, destete precoz, incorporación temprana de cereales y/o cereales con gluten) se han considerado como factores relevantes relacionados con el origen de la enfermedad celiaca (Polanco Allué y Mearin Manrique, 2002), así es destacable que el porcentaje de voluntarios que tuvieron lactancia materna es elevado (próximo al 80%) (**Tabla 19**). Es interesante señalar que de los 29 voluntarios que señalaron conocer el tiempo que habían recibido lactancia materna, 14 (casi la mitad de ellos) lo hizo por un periodo de más de 6 meses y 12 % la mantuvo < 3 meses (**Figura 24**). Dado que la mayoría de voluntarios tuvieron lactancia materna, creemos que las posibles diferencias en los valores iniciales de los marcadores de enfermedad celiaca (p. ej. anticuerpos antiendomiso, transglutaminasa, antigliadina) y de inflamación (p. ej.  $TNF\alpha$ , IL) no se deberían a este factor potencialmente protector. Como dato curioso indicar que dentro del 17.9% que no tuvieron lactancia materna, uno recibió leche de cabra y el resto tomó leche de vaca fresca rebajada con agua.



**Figura 24.** Distribución de los voluntarios del estudio CIBOM que tomaron las leches experimentales según el tiempo de lactancia materna.

Desafortunadamente la información que deriva del inicio del aporte de cereales sin/con gluten es bastante limitada, ya que casi la mitad de los voluntarios señala que desconoce la fecha de introducción de estos alimentos (**Tabla 19**). De los que declaran saberla para la introducción de cereales, 5 de 21 comentan lo hicieron muy prematuramente para cereales sin gluten (antes de los 3 meses) y 6 de 23 para cereales con gluten (antes de los 6 meses) (Bueno y Bueno-Lozano, 2007). Puede especularse que, considerando la edad media de los voluntarios (casi 34 años) y las tendencias en la década de los 80 de introducir precozmente los cereales con gluten y reducir la duración de la lactancia materna, que la mayoría de los que tomaron cereales con gluten durante los primeros meses de vida ya no recibieron lactancia materna. Este aspecto parece importante, pues como se discutirá a continuación, la lactancia materna es un factor de protección para evitar el desarrollo de la EC frente a la introducción de gluten a temprana edad.

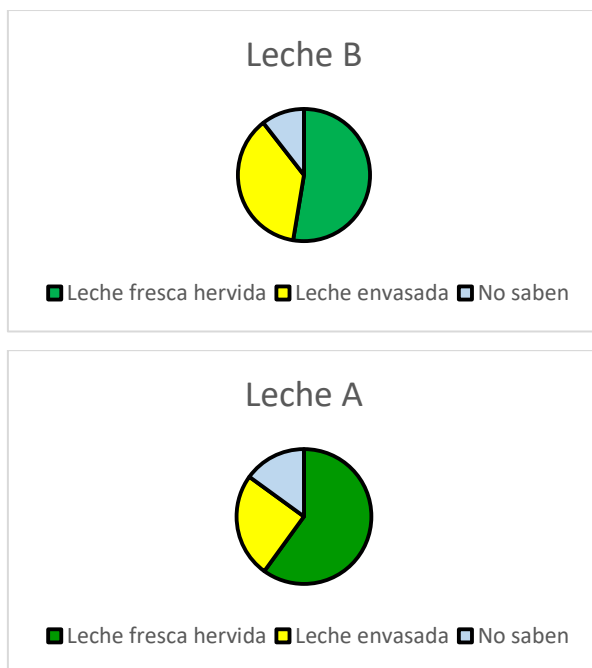
Así, un metaanálisis puso de manifiesto que el riesgo de EC era significativamente menor en los lactantes que estaban siendo alimentados con lactancia materna en el momento de la introducción de los cereales con gluten, comparado con el de aquellos alimentados con fórmula sin gluten. Tanto el momento de la introducción del gluten como la duración de la lactancia materna estuvieron asociados a una disminución del riesgo de desarrollo de la enfermedad. Otro aspecto importante es que aún no es bien conocido si la lactancia materna retrasa el desarrollo de la enfermedad o realmente evita que ésta se desarrolle. Por ello la lactancia materna es uno

de los elementos ambientales relacionado con el retraso en la presentación de la enfermedad o la reducción del riesgo de desarrollo de la misma (Ivarsson y cols., 2002). Entre los factores implicados se encuentran tanto los efectos de sus componentes bioactivos (inmunoglobulinas, hormonas, compuestos antimicrobianos, prebióticos, etc.), como su influencia sobre el proceso de colonización microbiana del tracto gastrointestinal del recién nacido (Ivarsson y cols., 2002).

La introducción de alimentos que contienen gluten antes de los 6 meses provoca un incremento de la incidencia de la enfermedad (Vriezinga SL y col., 2013; Ludvigsson JF y col., 2012), pero también lo provoca iniciar el consumo de alimentos que contienen gluten después de los 2 años. Esto se debe a la pérdida de la tolerancia inmunitaria a los antígenos del gluten. Distintas infecciones por microorganismos entéricos como adenovirus enterocitario humano 12 o *Cándida albicans* pueden estar implicadas en la patogenia de la respuesta inmune por similitud de antígenos de los agentes patógenos con los antígenos del gluten. No obstante, la edad crítica para la introducción de cereales está siendo fruto de intensa revisión y se ha señalado por consenso en la EC (Polanco ¿????), que la inclusión por vez primera de cereales con gluten tanto antes de los 3 meses como después de los 2 años pueden ser edades que incrementen el riesgo de inducir enfermedad celiaca.

La mayoría de los voluntarios (38,5%) consumieron por vez primera leche de vaca entre los 9 y 18 meses. Con anterioridad en un estudio realizado en 2007 por nuestro grupo (Rodríguez-Montealegre, 2007) el consumo de leche de vaca se realizó en el 56% de la población a la edad de 9-12 meses. También señalar que los datos de esta tesis muestran que un 20,5% de los que manifiestan conocer la edad de inicio del consumo de leche de vaca lo hacen antes de los 9 meses, mientras que en 2007 encontramos era el 33% en la misma zona de Toledo (Rodríguez-Montealegre, 2007).

Observando la **Figura 25** destacamos la cantidad de voluntarios que consumen leche fresca hervida en lugar de pasteurizada y ello puede ser debido a las zonas de donde provienen, muchos de ellos de zonas rurales, en las cuales era hace años normal que se tomara la leche directamente de las vaquerías y como único proceso de esterilización era hervirla, siendo el porcentaje de más de un 56% de nuestra muestra.

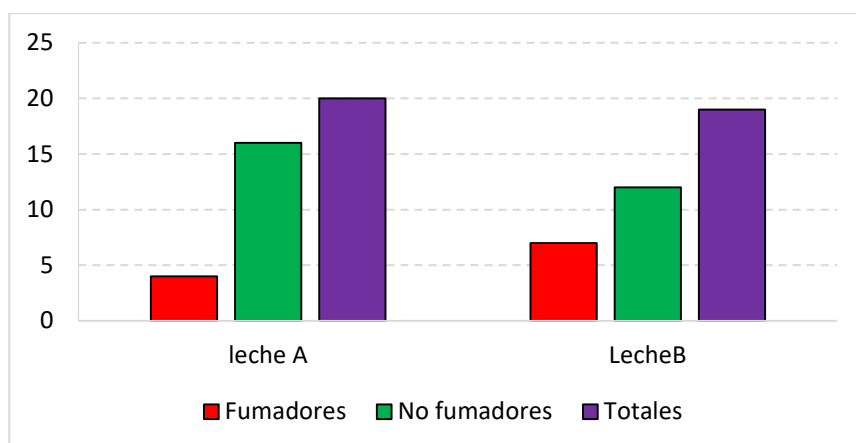


**Figura 25.** Clasificación de los voluntarios de los grupos A y B del el estudio CIBOM que tomaron diferentes tipos de leches de vaca en la primera infancia.

## 5.2 Hábitos tóxicos.

Respecto a los hábitos tóxicos, encontramos que la población objeto de estudio presenta datos similares a los de la población adulta de otros estudios (Cuesta y col., 1989; Martínez Sesmero JM, 2012) donde fumar, beber y sedentarismo son hábitos muy frecuentes. Debe señalarse que aunque beber más de 3 consumiciones/semana fue frecuente en varones, la ingesta de alcohol no fue elevada (Tabla 28). No obstante, considerando los efectos negativos del alcohol sobre la mucosa intestinal y la sugerencia de evitar su consumo en muchas patologías (Gordillo Bastidas y Gordillo Bastidas, 2015) debe resaltarse que un porcentaje no despreciable de los celíacos estudiados tenían hábitos que se alejaban de lo que puede considerarse como adecuado.

Por su parte, el tabaquismo tiene implicaciones muy negativas para la salud (Kannel WB, 1976), de ahí la importancia de erradicar este hábito tóxico. Algunos estudios encontraron (Cuesta y col., 1989) que en población presuntamente sana sin patología cardiovascular diagnosticada, fumar más de 20 cigarrillos /día producía un “envejecimiento” en el perfil lipoproteico de más de 25 años, ya que la población no fumadora de 55 años presentaba niveles equivalentes o incluso mejores de lípidos, apolipoproteínas (apo) y de cocientes de riesgo lipoproteico (colesterol total/HDLc) y apolipoproteico (apoA1/apo B) que los fumadores de más de una cajetilla/día con edad media de 25 años.

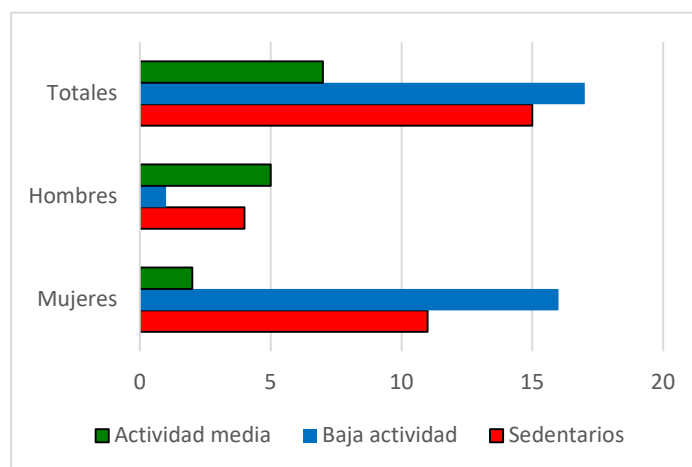


**Figura 26.** Distribución de los voluntarios del estudio CIBOM atendiendo al hábito tabáquico.

Los datos de esta memoria reflejan que de 39 pacientes que culminaron el estudio, 11 de ellos (4 de los 20 que bebieron la leche A y 7 de los 19 tomaron la leche B) son fumadores (**Figura 26**). De estos 3 fuman 20 o más cigarrillos, 6 consumen entre 10 y 15 cigarrillos/día y 2 fuman < 8 cigarrillos/día. La distribución por género tampoco fue muy diferente: de los 3 hombres que fuman, dos de ellos consumían 15 o más cigarrillos/día y el otro menos de 10; de las 8 mujeres, 2 fumaban > 20 cigarrillos/día, 4 consumían entre 10 y 15 cigarrillos/día, y 2 fumaban <10 cigarrillos/día.

Es de destacar la vida sedentaria de la mayoría de los hombres y mujeres estudiados, asemejándose, por tanto, a la población no celíaca actual. Definimos sedentarismo como las conductas sedentarias durante el periodo de vigilia que implican el estar sentado o recostado y conllevan a) una falta de actividad física definida como menos de 30 minutos de ejercicio regular y menos de 3 días a la semana o b) la actividad ocasional. Un incremento de la actividad física es siempre deseable ya que contribuye a reducir el exceso de peso corporal (Fernández MG y col.,

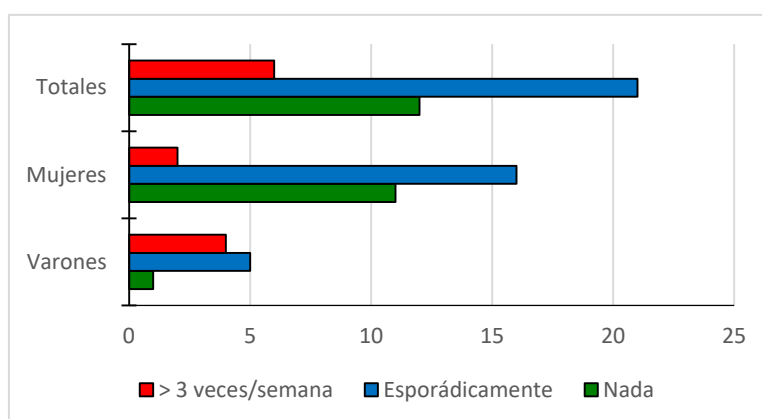
2012) incidiendo de forma muy positiva en la sensibilidad a la insulina y en el perfil lipoproteico (Sánchez Muniz FJ y Sanz Pérez, 2014).



**Figura 27.** Distribución de varones y mujeres del estudio CIBOM clasificados según el grado de actividad física

En el nodo de Valencia del Estudio PREDIMED (Ortega C, 2011) se observó que un 27,2% de una muestra de individuos con elevado riesgo cardiovascular eran sedentarios, siendo más prevalente en las mujeres que en los hombres (30.6% vs 21.4%, respectivamente). En esta memoria de Tesis Doctoral, 15 realizaron una actividad física baja, 17 una actividad media y tan sólo 7, tendiendo los hombres a ser menos sedentarios (**Figura 27**).

En cuanto al consumo de alcohol también fue menor y menos prevalente en las mujeres (**Figura 28**). No obstante, en la actualidad cada vez se encuentran menos diferencias en ambos géneros respecto a este hábito tóxico. El alcohol por sus implicaciones metabólicas debe ser reducido al igual que en la población no celiaca, salvo, probablemente, la ingesta de bebidas de baja graduación, las cuales a pesar de sus posibles efectos beneficiosos por el contenido de sus compuestos polifenólicos (p. ej. *trans*-resveratrol) deben ser consumidos de forma moderada (Gordillo Bastidas y Gordillo Bastidas, 2015).



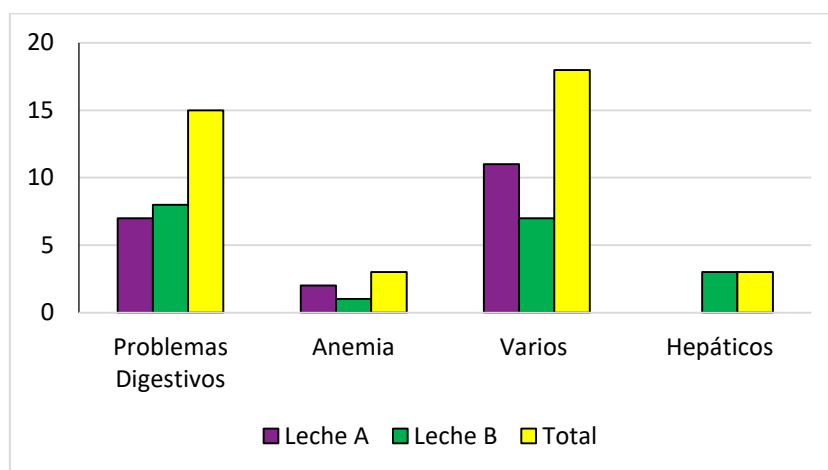
**Figura 28.** Consumo de bebidas alcohólicas en varones y mujeres del estudio CIBOM.

### 5.3. Edad de diagnóstico y sintomatología.

El intervalo de edad de 30 a 40 años fue el más frecuente en el que se diagnosticó la enfermedad celiaca (**Tabla 20**). Becerril S. en 2017 concluía que el 52,1% de los EC eran

diagnosticados antes de los 15 años, siendo también muy frecuente el diagnóstico entre los 25 y 49 años edad.

Los síntomas digestivos son los más habituales en el diagnóstico de EC, particularmente en edades tempranas, siendo la diarrea más habitual en niños pequeños, aunque el estreñimiento es habitual en el momento del diagnóstico en casi en la mitad de los pacientes. En nuestro estudio la diarrea fue mucho más prevalente que el estreñimiento (19 vs 2), aunque las denominadas formas atípicas fueron más habituales lo que coincide con el estudio de Rodríguez-Sáez (2006). En nuestro caso los porcentajes son de 38,5% con síntomas eminentemente digestivos y un 61,5% con otro tipo de afecciones y dentro de éstas, la anemia representa un porcentaje del 7,7% (**Figura 29**). Este porcentaje es mayor si consideramos los que presentaban varios síntomas, pues muchos de ellos tenían anemia junto con síntomas digestivos, dermatológicos o de otra índole, lo que coincide además con el trabajo de Alonso Canal L y col. (2013) en el que se destaca que la anemia es la manifestación hematológica más habitual de la población celiaca en el momento de su diagnóstico.



**Figura 29.** Síntomas principales en el momento de diagnóstico en los voluntarios del estudio CIBOM.

#### Características basales de la dieta.

La dieta del colectivo estudiado presentó algunas características a resaltar, derivadas de la baja ingesta de cereales y algo reducida de alimentos de difícil digestión o potencialmente alergénicos (p.ej. pescado). Así observamos el porcentaje de voluntarios del grupo A vs B que no cubren las ingestas recomendadas de vitaminas y minerales no fue elevada, lo que señala que curiosamente su situación nutricional no pueda considerarse de mala, sin embargo tanto el perfil calórico como el graso distan muy mucho de ser adecuados y próximos a los objetivos nutricionales aconsejados para la población sana (Sánchez-Muniz y Bastida, 2013).

Teniendo en cuenta la energía procedente de las diferentes macromoléculas, como en el resto de las poblaciones no celiacas, la energía que procede de los carbohidratos está muy por debajo del 50-60% señalado en los objetivos nutricionales. Ello es debido al tipo de alimentación de los celíacos cuyo consumo de hidratos de carbono, cereales en particular, está reducido y también por el alto precio de los cereales sin gluten (en muchas ocasiones es 3 veces mayor que el correspondiente con gluten). No obstante, el aporte de frutas y verduras tampoco se acerca al de 5 veces al día aconsejado en las Guías Nutricionales. La energía procedente de los lípidos y de los AGS es muy elevada, y lejos de lo señalada en los Objetivos Nutricionales (Sanchez-Muniz y Bastida, 2013). También la procedente de proteínas está muy por encima de lo deseable, aunque en casos de algunas patologías digestivas se incrementa su aporte para asegurar una

buena proporción de aminoácidos necesaria para renovación de la mucosa intestinal y garantizar los procesos digestivos. En particular en la población estudiada el consumo de carne y derivados es elevado y el de pescado reducido, debido a lo ya comentado y a la propia tradición en la zona centro de España y en especial en Toledo donde el consumo de pescado está muy por debajo de lo aconsejado y de lo que se consume en otras zonas sobre todo costeras (Martínez-Sesmero, 2012; Martínez-Sesmero y col., 2016). La contribución del alcohol al total de la energía no fue muy elevada y en su mayoría procede de bebidas de baja graduación como vino o cerveza y con las comidas, las bebidas con mayor graduación son consumidas por muy pocos voluntarios y de forma esporádica. Ya se ha comentado en el apartado hábitos tóxicos de esta discusión, que el consumo de alcohol parece no recomendado en enfermedades degenerativas (Gordillo Bastidas y Gordillo Bastidas, 2015).

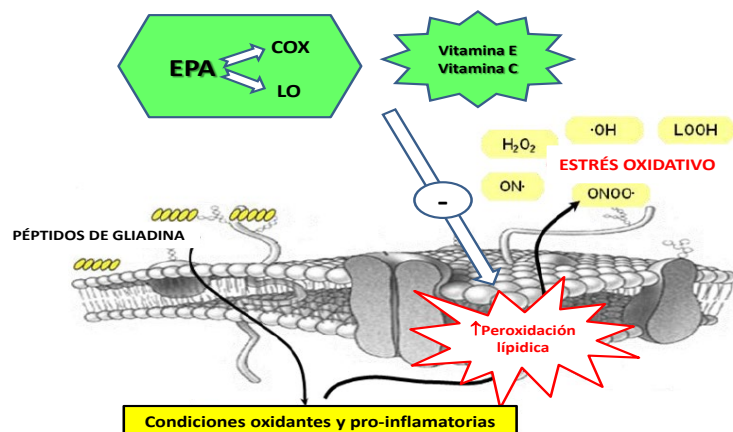
En cuanto al consumo de las grasas lo recomendable sería que el cociente AGP/AGS fuera mayor o igual a 0,5, en nuestros resultados se observa que la energía que procede de los AGS es del 15% siendo el objetivo primario que no superara el 10% y que en un futuro próximo el límite se redujera al 7-8% de la energía que procede de los AGS (Consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria 2004). En cuanto al consumo de AGM la contribución de se encuentra en el límite alto del intervalo 15-20% de la energía total, en línea con la utilización de aceite de oliva como grasa culinaria preferente (Sánchez-Muniz, 2007).

El porcentaje aconsejado para los ácidos AGP  $\omega$ -6 ha sido revisado recientemente (Sánchez-Muniz y Bastida, 2013) aunque con anterioridad (Moreiras O y col., 2007) se aconsejaba fuera menor del 4% para una ingesta del 35% del total de la energía y para los AGP  $\omega$ -3 del 1-2% de dicha energía, de nuestros resultados podemos extraer la conclusión de que el consumo de AGP  $\omega$ -6 está más elevado de lo aconsejado y sin embargo los AGP  $\omega$ -3 se consumen por debajo de las ingestas aconsejadas, dicho dato deriva lógicamente de lo expuesto anteriormente del poco consumo de pescado en la zona de Toledo. El suplemento de AGP  $\omega$ -3 en la leche contribuye a incrementar el aporte de AGP  $\omega$ -3 particularmente de los ácidos grasos con más de 20 átomos de carbono, como se discutirá más adelante.

Respecto al aporte de minerales (**Tablas 35 y 36**) señalar que en términos generales las dietas basales de los voluntarios del estudio CIBOM cubrían en la mayoría de ellos las ingestas recomendadas. No obstante el 23% para el hierro y el 18% de los voluntarios mostraron ingestas por debajo del 70% de las ingestas recomendadas (**Figura 20**). Estos datos son llamativos apuntan entre otros aspectos al bajo aporte de alimentos diferentes de la carne, los lácteos y algunas verduras como fuente de hierro y de cinc, lo que incide en la baja puntuación en el IAS total y en su componente variedad encontrado en esta población de celíacos (**Tabla 22**).

En cuanto a los niveles de ingesta basal de vitaminas encontramos que para tiamina, riboflavina y equivalentes de niacina es elevada en todos los voluntarios. Sin embargo, la ingesta cubrió menos del 70% de las RDA de algunas vitaminas en una proporción elevada de los celíacos participantes (46% para los folatos; 23% para el equivalente de retinol, 43% para la vitamina E y el 92% para la vitamina D (**Figura 20**). Esto hace en parte revisable algunos aspectos de la dieta de los voluntarios, dado en particular los beneficios del consumo de folatos para muchos aspectos metabólicos (niveles de homocisteína, donador de metilos, síntesis de ácidos nucleicos) como para la vitamina E, a nivel fundamentalmente de prevenir el riesgo inflamatorio y de estrés oxidativo de particular importancia en la EC (Ferretti G y col., 2012) (**Figura 31**).





**Figura 30.** Posibles mecanismos antioxidantes de las vitaminas E y C y del ácido graso eicosapentaenoico (EPA, 20:5 ω-3) sobre el estado pro-oxidante de la mucosa intestinal del paciente celiaco. Nótese la presencia de radical hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ), peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), lipoperóxido (LOOH), peroxinitrilo (ONOO), nitrilo ( $\text{ON}\cdot$ ). El EPA al ser mal sustrato para el enzima ciclooxigenasa (COX) origina menos radicales libres que el ácido araquidónico (20:4 ω-6) en su transformación en, prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos; igualmente menos radicales libres por ser mal sustrato de la lipooxigenasa (LO) para la formación de leucotrienos y lipoperoxiácidos y substratos relacionados (Modificado de Ferreti G y col., 2012).

La deficiencia de vitamina D se debe fundamentalmente al bajo consumo de pescado graso. La vitamina D presenta muchas funciones aparte de la regulación de la absorción del calcio y en la formación del hueso. Así se han definido funciones nutrigenómicas, efectos antioxidantes, etc. (Gil A, 2017). No obstante, creemos que esta situación no es muy crítica si los pacientes toman al día unas horas de sol.

El estado de salud en cuanto a la analítica basal hematológica de los celiacos que los niveles medios se los diferentes parámetros se encuentran dentro de los niveles de normalidad (Tabla 23).

#### 5.4 Efectos del consumo del lácteo enriquecido en omega-3 y folatos sobre las características de la dieta de población celiaca objeto de estudio.

Considerando la información de la composición de las leches experimentales (Tabla 16), la ingesta de 500 mL/día de la leche funcional B respecto a la leche control A supuso aproximadamente un aporte extra de 375 mg de AGP ω-3, fundamentalmente como EPA (133 mg) y DHA (200 mg) y 150 μg de folatos y 0,15 mg de vitamina B<sub>6</sub> y Vitamina E 7,5 mg. Este suplemento es en algunos casos relevantes pues ayuda apaliar, al menos en parte las deficiencias señaladas del aporte de la dieta a la RDA en los voluntarios que toman la leche potencialmente funcional.

Es interesante comentar que elevó de forma significativa la contribución dietética de los AGP ω-3 (4 veces la de EPA y 2,5 veces la de DHA). Si bien el cociente omega-6/omega-3 de la dieta, no se afectó significativamente, ya que esta leche funcional tenía un cociente omega-6/omega-3 de alrededor de 4. Estos cambios son relevantes dado el papel inmunomodulador, antiinflamatorio de los AGPω-3 y en particular de los ácidos EPA y DHA (Calder PC, 2011; Sánchez-Muniz y Batida, 2013).

Así, respecto a los niveles de folato el aporte extra de folato de 150 mg/día supuso reducir en el grupo B la prevalencia de deficiencia (<70% de las RDA) de folato y vitamina E de forma relevante (9 individuos a nivel basal, 4 a los dos meses para folato; 8 a nivel basal a solo 1 para

la vitamina E). El aporte extra de vitamina B<sub>6</sub> incrementó las ingestas ya elevadas de esta vitamina en el grupo que consumió el lácteo funcional. Esta vitamina participa en multitud de funciones, pero especialmente en la utilización metabólica de aminoácidos y de la proteína (Gil A, 2010) pudiendo especularse una función positiva de esta vitamina hidrosoluble en la renovación de la mucosa intestinal de los enfermos celíacos.

En la actualidad y al ser la leche un buen vehículo para la adición de nutrientes que pudieran encontrarse por debajo de la ingesta recomendadas y en particular en algunas patologías que presentan singularidades como en el caso de la población celíaca, cuya incidencia de inflamación y otro tipo de sintomatología es mayor que otros colectivos (ver Enfermedad celíaca y su asociación con otras patologías en el apartado de Revisión bibliográfica). Estos pacientes presentan mayor prevalencia de deficiencia de vitaminas y minerales cuya causa posiblemente sea la mala absorción intestinal cuando ingieren pequeñas cantidades de gluten incluso inconscientemente, alta incidencia de anemia por falta de hierro, folato o vitamina B<sub>12</sub> (10-15%), diátesis hemorrágica por falta de absorción de vitamina K (Camarero González y col., 2010).

En términos generales puede decirse que la dieta de los voluntarios permaneció bastante estable a lo largo del estudio, manteniéndose las diferencias observadas ya en la dieta basal, excepto para los nutrientes que se aportan por la leche funcional (AGP  $\omega$ -3; folatos, Vitamina C y Vitamina E), permitiendo sugerir que los efectos funcionales observados y que se discutirán continuación se deben prácticamente al suplemento añadido.

### 5.5. Efecto del consumo de la leche enriquecida en AGP $\omega$ -3 y folatos sobre los niveles de ácidos grasos en suero en la población celíaca objeto de estudio.

Uno de los aspectos más relevantes de esta tesis es conocer la biodisponibilidad de los AGP  $\omega$ -3 consumidos formando parte de la matriz láctea. Estos ácidos grasos son absorbidos y se transportan en las lipoproteínas formando parte de ésteres de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos a diferentes tejidos donde realizan sus múltiples funciones (Sánchez-Muniz y Bastida, 2013; Gil A y col., 2012). Muchos autores han encontrado incremento de los ácidos AGP  $\omega$ -3 en suero o en fosfolípidos del suero tras la ingesta de pescado o lácteos enriquecidos en AGP  $\omega$ -3 de muy larga cadena (**Tablas 9 a 15**) (Gil A y col. 2012), encontrándose correlaciones significativas entre los niveles en plasma o suero de estos ácidos grasos con la ingesta de los mismos (Gil A y col., 2012). En particular utilizando la misma leche enriquecida Fonollá J y col. (2009) observaron incrementos significativos en los niveles en suero de DHA en g/100 g de ácidos grasos y en el cociente ácido araquidónico/EPA en los voluntarios no afectados de EC pero con riesgo cardiovascular moderado que tomaron dicha leche enriquecida.

En nuestro estudio observamos que el consumo de leche enriquecida en AGP  $\omega$ -3 (grupo B) elevó en el suero de estos individuos un 78% el contenido de EPA y un 14% el total de AGP- $\omega$ 3 (ambos en % del total de ácidos grasos) mientras que no cambió el porcentaje de EPA o AGP  $\omega$ -3 en el suero tras consumir leche A (**Tablas 61 y 62**). El cociente linolénico/EPA es un buen indicador de la actividad de la enzima delta-6 desaturasa-elongasa implicada en la transformación del ácido linolénico en EPA. Niveles elevados de este índice sugieren baja transformación del ácido graso madre  $\alpha$ -linolénico en EPA. Este índice fue a los dos meses casi dos veces menor en el suero de los voluntarios que consumieron leche B que en los que tomaron la leche A (**Tabla 65**), lo que sugiere la alta biodisponibilidad de este ácido graso incluido en el lácteo funcional objeto de estudio.

## **Efectos del consumo del lácteo funcional sobre los marcadores hematológicos de los voluntarios celíacos del estudio CIBOM.**

El estado de salud en cuanto a la analítica de nuestros encuestados **Tabla 39** es que están dentro de los valores aconsejados, podemos decir que las medias de los principales valores están dentro del intervalo de normalidad, los hematíes están en 4,6 millones, el hematocrito en un 42%, la hemoglobina tiene un valor de 14, los leucocitos  $6,7 \times 10^9/L$

En la **tabla 40** tenemos los datos referentes al perfil lipídico, lo destacable es el valor de las LDL que están ligeramente por encima del nivel de corte considerado como óptimo. Los valores de partida en cuanto al recuento sanguíneo de los encuestados obtuvo porcentajes bastante aceptables de partida, detallando: El volumen corpuscular medio (VCM) fue adecuado para más del 82%, el 78,9% de los que toman la leche B, el 85% para los de la leche A, tan sólo un 17,9% presentan valores por debajo de lo aceptable.

Los leucocitos presentan valores normales para 36 de los 39 casos estudiados, tan sólo un caso de la leche A y dos de los que toman la leche B tienen resultados por debajo del rango de normalidad. Los linfocitos obtuvieron buenos resultados en 38 de los 39 voluntarios y solamente una persona del grupo B estaba por debajo del rango adecuado. Los basófilos están en los grupos dentro de los márgenes deseados, en el caso de los monocitos el 94,9% presentan valores entre 100 y 800/ $\mu L$  y dos voluntarios, uno del grupo B y otro del A tienen elevados los monocitos, lo que representa un 5,1% del total.

Los datos para los neutrófilos son similares, 38 de los 39 están dentro de la normalidad y una mujer que consume la leche B tenía los neutrófilos elevados. Los eosinófilos están dentro del intervalo definido como normal. En 35 de los 39 participantes, de los 4 que presentan resultados por debajo del intervalo de normalidad, 3 son de la leche B y 1 del grupo A.

El número de plaquetas en el 94,9% de los voluntarios estuvo dentro del intervalo de normalidad mostrando el resto de los voluntarios trombopenia (5,1%) están por debajo de este valor aconsejado, uno pertenece a la leche A y otro a la leche B.

Considerando el valor de los hematíes teniendo en cuenta los diferentes intervalos que existen para varones y mujeres lo que obtenemos es que 10 de los 39 están por debajo del intervalo normal, si lo que consideramos es el hematocrito haciendo la misma consideración que para los hematíes es bajo en dos de los 39 casos estudiados al igual que la hemoglobina, nos hace sospechar que tendrían anemia microcítica. Estos resultados son coincidentes con lo publicado en el libro blanco de la enfermedad celíaca (Rodrigo Sáez L y col., 2007) donde se refleja la presencia de anemia ferropénica crónica generalmente moderada pero refractaria al tratamiento con hierro oral. Otra alteración frecuente es la leucopenia acompañada o no de trombopenia, ambas tienen origen inmunológico (Rodrigo Sáez L y col., 2007).

Considerando las condiciones basales con respecto a los marcadores de daño mucosal, la IgA2 es más alta para los que tuvieron lactancia materna durante más tiempo. En la actualidad no está del todo claro si la lactancia es un factor protector o simplemente retrasa la aparición de la enfermedad.

## **Efecto del consumo de una leche potencialmente funcional sobre los marcadores biomarcadores inflamatorios y de daño mucosal en la población celíaca objeto de estudio.**

La inflamación es la primera respuesta del organismo a una agresión o daño tisular. Esta respuesta se caracteriza por la aparición de una serie de signos cardinales como enrojecimiento, sudor, calor y dolor. Esta típica sintomatología se debe a la vasodilatación, acumulación de leucocitos, incremento de la permeabilidad capilar y estimulación de las terminaciones nerviosas por diferentes mediadores que pueden ser liberados por células de los sistemas

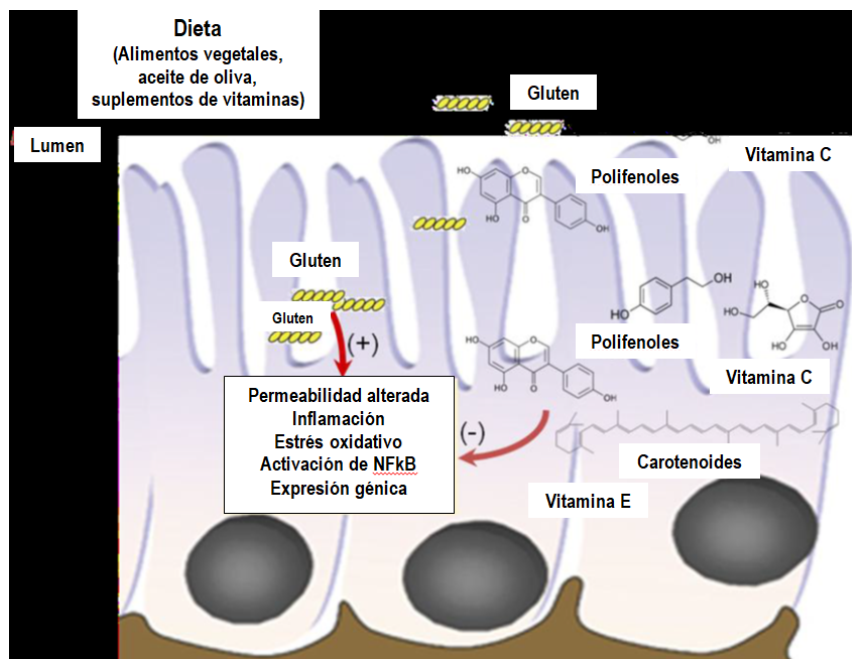
inmunitarios innato o adquirido, o bien pueden ser producidos por los sistemas enzimáticos plasmáticos entre los que se encuentran; los sistemas de la quinina, coagulación, fibrinolítico y factores del complemento. Estos efectos, que se originan localmente, se complementan con una reacción sistémica llamada respuesta de fase aguda caracterizándose por cambios en la concentración de determinadas proteínas circulantes y de otras sustancias denominadas reactantes de fase aguda (Gabay y Kushner, 1999).

Normalmente, estas proteínas y moléculas reactantes aumentan sus niveles como respuesta a un daño tisular como en el caso de la PCR o el fibrinógeno. La mayoría de las sustancias de fase aguda se sintetizan en el hígado siendo estimuladas por las citoquinas producidas durante la respuesta inmune del organismo, principalmente por la IL-6 y el TNF $\alpha$ . Hay otra serie de cambios en los tejidos inducidos, también, por las citoquinas proinflamatorias como leucocitosis, fiebre, e incluso, pueden originarse cambios conductuales, como somnolencia y letargo. En nuestro estudio encontramos una modificación casi significativa ( $P=0,051$ ) en los voluntarios que consumen leche A vs los que beben la leche B, con tendencia a reducirse el nivel de neutrófilos (**Tabla 55**). Estas células participan en mecanismos de fagocitosis, inmunidad innata, e inflamación, con lo que su descenso puede interpretarse como un mecanismo ligado a la ingesta de AGP  $\omega$ -3 (Calder PC, 2011), que como hemos comentado incrementó la ingesta y los niveles en suero de manera relevante durante el tratamiento con la leche funcional en el caso de los voluntarios del grupo B (**Tablas 31, 45 y 46**). Aslan A y col. (1992) en pacientes afectados de colitis ulcerosa observó una reducción de la inflamación con el consumo de aceite de pescado, con un alto contenido de AGP  $\omega$ -3.

Como muchas otras proteínas de fase aguda, la PCR se expresa básicamente en el hígado, pero no exclusivamente ya que puede encontrarse en células musculares lisas de las arterias coronarias humanas y, en especial, en vasos alterados. La PCR está presente a concentraciones muy bajas en el suero, pero sus niveles se incrementan rápidamente como respuesta a una infección, a un proceso inflamatorio o ante la existencia de daño tisular. Los hepatocitos son los encargados tanto de la síntesis de PCR como de su eliminación del plasma, siendo su vida media de 19 horas, independientemente de las concentraciones alcanzadas o de las enfermedades existentes (Hutchinson W y col., 1994). Los niveles circulantes permanecen estables sin variaciones circadianas apreciables lo que le confiere gran utilidad como marcador de enfermedades degenerativas de índole inflamatoria

La enfermedad celíaca se caracteriza por una interacción compleja entre factores genéticos y ambientales. El daño a la mucosa en pacientes celíacos se considera inducido por una interacción entre las respuestas inmunitarias innata y adaptativa al gluten ingerido. La inflamación y el estrés oxidativo debidos a un aumento de las especies reactivas de oxígeno y una disminución de las defensas antioxidantes están implicados en los mecanismos moleculares de la enfermedad celíaca. Esto a su vez conduce a la activación incontrolada de los factores de transcripción proinflamatorios NF $\kappa$ B, sensibles a los efectos redox, a la producción continuada de ROS y RNS y al soporte de la inflamación crónica (Ferretti G y col., 2012).

Varios componentes de la dieta, incluidos los polifenoles de plantas, carotenoides y ácidos grasos, tienen el potencial de modular la predisposición a enfermedades inflamatorias crónicas intestinales y pueden tener un papel en la terapia nutricional de la enfermedad celíaca (Calder PC y col., 2009; Calder PC, 2011). Estos componentes actúan a través de una variedad de mecanismos que incluyen la disminución de la producción de mediadores inflamatorios a través de los efectos sobre la señalización celular y la expresión génica, reduciendo la producción de oxidantes dañinos y promoviendo la función de barrera intestinal y las respuestas antiinflamatorias (**Figura 31**).



**Figura 31.** Efecto protector de los fitonutrientes sobre la citotoxicidad de los péptidos de gluten. La presencia de vitamina antioxidantes en el intestino (vitamina C y E), los polifenoles y los carotenoides de los alimentos y aceites vegetales de la dieta o incluidos en alimentos funcionales, absorbidos por las células intestinales, podrían ejercer efectos protectores contra la toxicidad ejercida por los péptidos del gluten en las células intestinales a través de inhibir la inflamación, el estrés oxidativo y la expresión de factores de transcripción moduladores de la respuesta inflamatoria (p.ej.  $\text{TNF}\alpha$ ) (modificada de Ferreti G y col., 2012).

A este respecto, las vitaminas C y E son capaces de modular las respuestas inmunitarias de varias maneras, por ejemplo, modulando la función de los leucocitos y la proliferación de linfocitos [Goetzl EJ y cols., 1974]. La vitamina C y E ejercen también una actividad antioxidante y, por lo tanto, modulan el proceso inflamatorio. Asimismo, se ha demostrado una disminución de la activación de NFκB con la consiguiente disminución de la liberación de citoquinas proinflamatorias (IL-8 y PAI-1) en presencia de vitamina E (particularmente  $\gamma$ -tocoferol) (Cook-Mills y McCary, 2010). En esta memoria de Tesis Doctoral el consumo de Vitamina E supuso un aporte extra de vitamina E de 7,5 mg/día, lo que además de contribuir a la mejora de la ingesta de esta vitamina contribuyó, al menos potencialmente, a reducir los mecanismos oxidativos a niveles más reducidos del factor de transcripción modulador de la respuesta inflamatoria ( $\text{TNF}\alpha$ ) y con ello de la propia inflamación y de sus marcadores. Ya hemos comentado que atendiendo a los niveles de PCR y  $\text{TNF}\alpha$  de los voluntarios del estudio CIBOM (Tabla 63), su grado de inflamación mucosal debe ser reducido.

No obstante, los valores de las IL en los voluntarios de ambos grupos presentan una amplia dispersión, lo que explica la alta desviación estándar de la media de tales marcadores pro-inflamatorios. También es de señalar que el aporte extra de vitamina E no parece ejercer ningún beneficio a este respecto. Sin embargo, debemos indicar que la tendencia a la reducción en el título de anti gliadina IgA2 durante los primeros dos meses fue significativamente mayor en los voluntarios que beben la leche B que en los que ingieren la leche control (Tablas 63 y 68), lo que sugiere cierta protección mucosal. También indicar que basalmente los pacientes del grupo B presentaban títulos de anti endomisio significativamente más elevados que los controles y que esas diferencias dejan de ser significativas por la intervención nutricional (Tablas 63 y 64). No obstante desconocemos por qué no se producen modificaciones en los títulos de anticuerpos tTG, aunque se mantienen bajos a lo largo del estudio en los pacientes del grupo que bebe leche

funcional. Ferreti G y col (2012) señalan que como consecuencia de una digestión incompleta de la gliadina se producen péptidos tóxicos que se acumulan en los lisosomas de las células intestinales con la finalidad de ser eliminados, situación que puede llevar a mecanismos de oxidación y formación de radicales libres y a lesión intestinal de índole apoptótica (**Figura 30**). Puede especularse que los antígenos (tTG, IgA2, endomisio) liberados en la muerte celular no lo hacen en la misma proporción o al mismo tiempo, por lo que los efectos de los ingredientes de la leche funcional no inducen los mismos efectos sobre estos tres marcadores.

Bernardo D y col. (2011) han demostrado que la administración de vitamina C en el sistema de cultivo de órganos con biopsia de la mucosa del intestino delgado previene la secreción aumentada IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$  e IL-6 y aumenta la expresión de IL-15 desencadenada por la gliadina, lo que sugiere que La suplementación con vitamina C podría ser beneficiosa para los pacientes celíacos. En nuestro estudio no se aportaron niveles extras de esta vitamina antioxidante.

En las **tablas 11 a 13** se resumen algunos estudios tanto a nivel general de inflamación como de enfermedad intestinal inflamatoria donde se observan efectos antiinflamatorios de los AGP  $\omega$ -3. También existen estudios donde no se encuentran efectos significativos. En la mayoría de los trabajos revisados el aporte extra de AGP  $\omega$ -3 rondó los 3 gramos/día, cantidad del orden de 6 veces más elevada que la empleada en el Estudio CIBOM.

Se ha propuesto que los ácidos grasos pueden influir en la inflamación a través de diferentes mecanismos, incluida su acción a través de la superficie celular y de los receptores/sensores intracelulares que controlan la señalización celular inflamatoria y los patrones de expresión génica (Calder PC, 2011). Como ya hemos señalado, los eicosanoides producidos a partir del ácido araquidónico (AGP  $\omega$ -6) tienen un papel pro-inflamatorio, por el contrario, el EPA (AGP  $\omega$ -3) da lugar a eicosanoides con propiedades antiinflamatorias (Calder PC, 2011; Sánchez-Muniz y Bastida, 2013). Así, se ha informado que los AGP  $\omega$ -3 inhiben la activación del factor de transcripción NF $\kappa$ B con la consiguiente inhibición de la producción de citoquinas pro-inflamatorias; en contraste, AGS, especialmente el ácido láurico (12: 0), aumentaron la activación de NF $\kappa$ B en macrófagos y células dendríticas (Lee JY y col., 2001). Ya comentábamos que la ingesta basal de EPA, DHA y total de AGP  $\omega$ -3, tendieron a ser más reducidas en los voluntarios del grupo B (**Tablas 31 y 32**), situación que explicaría los niveles basales más elevados de antígeno antiendomiso en dichos voluntarios (**Tabla 63**). Durante el tratamiento se incrementan en suero los niveles de EPA y AGP  $\omega$ -3 a los 2 y 4 meses (**Tablas 45, 47, 50 y 51**), contribuyendo a disminuir las diferencias en el título de antiendomiso entre los voluntarios de ambos grupos experimentales y a reducir la tasa de antigliadina IgA2 en los voluntarios del grupo B.

El efecto de los ácidos grasos en la expresión génica podría estar mediado también a través de sensores o receptores de ácidos grasos como el PPAR $\gamma$ . De hecho, los AGP y sus derivados son ligandos endógenos para PPAR- $\gamma$  y se ha demostrado que el PPAR- $\gamma$  inducido por los PUFA está asociado a una reducción en la producción de citoquinas proinflamatorias (TNF $\alpha$  e IL-6) (Zapata-González F y col., 2008). Además, utilizando una línea celular epitelial intestinal humana (Caco-2) expuesta a péptidos de gliadina, se ha demostrado que el DHA es capaz de contrarrestar muchos de los efectos pro-inflamatorios del ácido araquidónico. De hecho, el DHA evita la liberación de ácido araquidónico, la expresión de la ciclooxigenasa-2, la actividad de la fosfolipasa A<sub>2</sub> y la liberación de prostaglandina E<sub>2</sub> e IL-8 en el medio de cultivo, lo que sugiere que el DHA inhibe la liberación de ácido araquidónico de estas células (Vincentini O y col., 2011). Cabe, por tanto, especular que la ingesta más elevada de DHA podría haber también repercutido en estos efectos protectores, aunque no se detectaran niveles más elevados en plasma. Es posible que debido a que el cerebro y la retina son destinos prioritarios para este ácido graso

(Sánchez-Muniz FJ y col., 2013) no se encuentren cambios en el plasma de los voluntarios del grupo B, aunque podría haber otros mecanismos que no conocemos.

Aunque los niveles de IL, TNF  $\alpha$  y PCR aparentan ser mayores a nivel basal y durante todo el estudio en los voluntarios que consumen la leche B, debido a la dispersión de datos no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos (**Tabla 63**). Tampoco mejoró la resolución estadística al comparar los datos de los dos grupos experimentales al realizar una transformación logarítmica de los mismos (datos no mostrados). Por último, es interesante comentar que los niveles de anti IgA<sub>2</sub> se reducen más durante los dos primeros meses por el consumo de leche B que por el de leche A. Posteriormente los niveles de IgA<sub>2</sub> en los voluntarios consumiendo la leche B se incrementan, aunque no se encuentran diferencias significativas a los 4 meses del estudio para las tasas de IgA<sub>2</sub> en ambos grupos. No tenemos ninguna hipótesis al respecto para explicar dichos cambios.

Por todo lo anterior puede concluirse que el tratamiento con leche funcional a diferencia aparente entre los niveles de los marcadores de inflamación en los voluntarios del grupo A vs los de grupo B, no cambió de forma relevante por el aporte de ambos tipos de leche, lo que plantea una triple hipótesis:

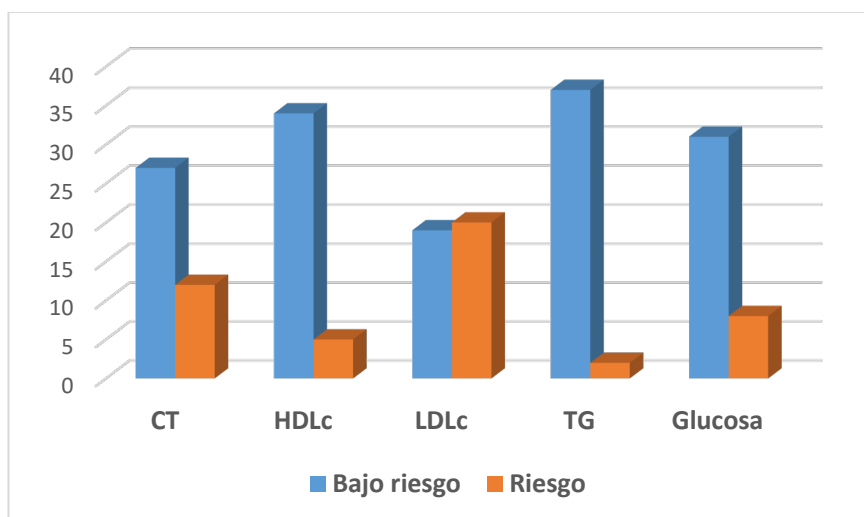
- a) El aporte de AGP  $\omega$ -3 no fue suficientemente elevado para mediar una mejoría de estos marcadores inflamatorios
- b) Ciertos cambios en la dieta anulan los efectos protectores de estos ácidos grasos
- c) Los niveles basales son bajos y por tanto poco afectables por el aporte de cantidades moderadas de AGP  $\omega$ -3.

En relación con el primer supuesto, aunque la biodisponibilidad de estos AGP ensayados es elevada, en otros estudios realizados en enfermos con colitis ulcerosa, las cantidades son mucho más elevadas (p.ej. 3-4,5 g/día de EPA) (Cabré Gelada E y col., 2013; Hernández A y col., 2013). En cuanto al segundo aspecto, recordaremos que en la enfermedad celiaca también se produce una reducción de las actividades enzimáticas relacionadas con la digestión (p.ej. lactasa) (Fahs PA y col., 2010). Aunque ninguno de los pacientes que terminaron el estudio manifestó tener problemas digestivos o alteraciones tipo diarrea o heces de menor consistencia, es posible que la ingesta de leche (al menos medio litro al día) para alguno de los pacientes fuera algo elevada y la lactosa no digerida pudiera incidir negativamente sobre la mucosa intestinal, anulando o reduciendo los efectos positivos de los AGP  $\omega$ -3. Es de denotar que muchos de los voluntarios evitaban consumir pescado o cantidades elevadas de este alimento por la posible implicación alérgica de su proteína. También reducían la ingestión de alimentos de digestión más compleja como las leguminosas. Por último, en relación con la última hipótesis, Celada P y col. (2016 a y 2016 b) en pacientes con riesgo cardiovascular elevado encontraron niveles medios de TNF $\alpha$  >27 pg/mL y de PCR del orden de 3  $\mu$ g/mL, tasas mucho más elevadas que las observadas en la presente memoria de Tesis doctoral, lo que sugiere nivel de inflamación reducido en estos pacientes. Según Gil Hernández A y col. (2013) los AGP  $\omega$ -3 no suelen mostrar efectos significativos en la disminución de biomarcadores de inflamación en individuos sanos, aunque la suplementación con estos AGP disminuye niveles de células inflamatorias y biomarcadores inflamatorios, sobretodo de citoquinas y eicosanoides pro-inflamatorios en pacientes con enfermedades inflamatorias agudas y graves. Cabré Gelada E y col. (2013) indican que aunque los AGP $\omega$ -3 son unos candidatos inmejorables dadas sus acciones antiinflamatorias, aun es dudoso su inequívoca recomendación en las colitis ulcerosas y enfermedad de Crohn para tratar los brotes de actividad y prevenir las recidivas durante los periodos de remisión.

**Efecto del consumo de una leche potencialmente funcional sobre los niveles de Lípidos (colesterol y TG), lipoproteínas (LDL-c, HDL-c), los cocientes de riesgo (CT/HDL-c, LDL-c/HDL-c,**

y cociente molar TG/HDL-c), índice TyG y homocisteína en la población celíaca objeto de estudio.

La población celíaca estudiada presenta unos niveles de lípidos y lipoproteínas razonablemente adecuados, lo que a su vez sugiere una baja prevalencia de individuos que se encuentran en riesgo cardiovascular (**Figura 32**).



**Figura 32.** Prevalencia de distintos factores de riesgo cardiovascular donde el bajo riesgo se considera para CT < 200 mg/dL, HDLc ≥ 40 mg/dL, LDLc < 110 mg/dL, TG < 150 mg/dL y Glucosa < 100 mg/dL; riesgo se considera para CT ≥ 200 mg/dL, HDLc < 40 mg/dL, LDLc ≥ 110 mg/dL, TG ≥ 150 mg/dL y Glucosa ≥ 100 mg/dL.

El estudio del perfil lipídico es importante para valorar el riesgo cardiovascular, ya que las lesiones ateroscleróticas se correlacionan positivamente con los niveles de LDLc y negativamente con los de HDLc incluso en niños y adultos jóvenes (Knuiman y cols., 1982; Shear CL y col., 1985; Napoli C y col., 1999, Palinski y Napoli, 2002, 2008).

Es llamativo esta situación basal a pesar de las características de la dieta ya comentadas (prácticamente normocalórica pero hipergrasa, hiperproteica e hipohidrocarbonada y con un porcentaje de AGS también muy elevado) dada la relación del consumo de grasa y particularmente de AGS con la lipemia y lipoproteinemia (Sánchez-Muniz FJ y col., 2013). Martínez Sesmero en el estudio Área de Toledo (Martínez-Sesmero M tesis 2012) encontró que los niveles de lípidos y lipoproteínas eran razonablemente adecuados y en cierto modo no estaban relacionados con el perfil de la dieta que consumían. En la actualidad existe consenso sobre los niveles óptimos de colesterol y LDLc en población adulta (ATPIII) y de glucosa (Alexander CM y col. 2003) por otro lado la definición armónica de síndrome metabólico señala que los triglicéridos no deben superar los 150 mg/dl, la glucosa los 100 mg/dL y la HDL debe ser más elevada de 40 mg/dL en los hombres y de 50 mg/dL en las mujeres (Sánchez-Muniz FJ, 2018). Los datos de esta memoria, en cierto modo paradójicos dado el nivel de ingesta inadecuado para algunos ácidos grasos, podrían explicarse por la prevalencia muy baja de obesidad en la población objeto de estudio y las alteraciones que esta enfermedad implica en el metabolismo lipoproteico (Sánchez-Muniz FJ, 2018). También es de señalar que participan más mujeres que hombres y que la mayoría se encuentra en situación premenopáusica, lo que condiciona, debido a sus niveles de estrógenos, concentraciones plasmáticas de triglicéridos



más reducidas, y de HDLc más elevadas que sus equivalentes postmenopáusicas (Sánchez-Muniz FJ y col., 2003).

También los niveles de glucosa parecen correctos, lo que también podría relacionarse con la baja ingesta de hidratos de carbono totales y sencillos (Sánchez-Muniz y col., 2013) de la población celiaca estudiada y la baja prevalencia de obesidad. No obstante, 15% de celíacos presentaban valores entre 100 y 126 mg/dL (**Figura 33**), situación que define un estado de prediabetes (IDF, 2014) y que constituye un componente del Síndrome Metabólico (Sánchez-Muniz FJ, 2018).

Por otro lado también los niveles de homocisteína son adecuados, lo cual podría ser explicado al menos en parte por la elevada ingesta de folatos, vitamina B<sub>6</sub> y vitamina B<sub>12</sub> que basalmente la población tiene. Celada y col (2016 a y 2016 b) encontraron en una población de hombres con un riesgo cardiovascular elevado niveles de homocisteína dobles de los encontrados este estudio. Es conocido que aunque los celíacos reducen el consumo de cereales, su dieta suele ser rica en vegetales, y en productos cárnicos (conteniendo hígado) lo que asegura el aporte de estas vitaminas y por tanto una adecuada homocisteinemia (Gesteiro y col., 2013; Sánchez-Muniz y col., 2013). De hecho ningún paciente celiaco presentó niveles superiores a 10 µmol/L de homocisteína.

El cociente molar Tg/HDLc se ha señalado como marcador de tamaño de partícula y aterogenicidad de las LDL (Tonding SF y col., 2014) de tal forma que niveles de este cociente <1,30 bajos son indicativos de LDL de gran tamaño y poco peroxidables y aterogénicas (Tonding SF y col., 2014). También este cociente puede ser utilizado como indicativo de posible resistencia a la insulina (Tonding SF y col., 2014). Sus niveles en la población estudiada son muy reducidos, lo que sugiere una baja aterogenicidad de las LDL en estos pacientes y a su vez una resistencia a la insulina reducida.

El índice triglicérido-glucosa (TyG), no mostrado en esta tesis, se ha considerado como un marcador potencial de resistencia a la insulina (Gesteiro E y col., 2018; Unger y col., 2012) ya que correlaciona de forma elevada y significativa con otro marcador de resistencia a la Insulina: el HOMA-IR. Los resultados medios de glucosa y triglicéridos obtenidos en los celíacos implicarían un TyG de 8,1 valor considerado por Unger y col. (2014) como indicativo de una baja resistencia a la insulina.

De la figura en la que hemos representado el perfil lipídico de los voluntarios con su media y desviación estándar podemos comprobar que todos los valores se encuentran dentro del rango recomendado y haciendo la comparativa con otros estudios como el realizado por Cinza-Sanjurjo y col. (2016), son bastante coincidentes y tan sólo existe una ligera variación con respecto a los triglicéridos que en nuestra población son menores, pero hay que considerar que este estudio se realizó en personas con riesgo cardiovascular de ahí que ese dato fuese más alto.

La división aleatoria en los dos grupos señaló un perfil lipoproteico basal ligeramente mejor en los voluntarios del grupo B. Por el consumo de ambas leches experimentales el perfil lipoproteico no se modifica de forma relevante aunque a los dos meses desaparecen las significaciones o tendencias a la significación que se observaban en los marcadores lipoproteicos (CT/HDL o LDLc/HDLc) a nivel basal (**Tabla 49**). Debido a la tendencia de los niveles de HDLc a subir en el lote A y de bajar en el B, la tasa de cambio fue del 8,5% en los dos primeros meses para HDLc, lo que podría considerarse un aspecto paradójico debido al efecto de los omega-3 elevando ligeramente los niveles de HDLc (Sánchez-Muniz y col., 2013). Los niveles de AGP  $\omega$ -3 aportados por la leche enriquecida (0,5 g/día) no ejercieron ningún efecto sobre la trigliceridemia. Tampoco Celada y col. (2016 b) o Delgado-Pando y col (2014) observaron efectos significativos sobre la trigliceridemia de pacientes con riesgo cardiovascular incrementado y con sobrepeso/obesidad cuando consumieron patés con bajo contenido grasos vs los mismos patés con bajo contenido graso pero enriquecidos en AGP  $\omega$ -3.

En muchos estudios que hemos revisado y se incluyen en el apartado de la revisión bibliográfica (**tablas 9 y 10**) se encuentran resultados muy dispares en los efectos sobre los niveles de colesterol total, de LDLc y de los triglicéridos, que dependen de la muestra, tipo de paciente y cantidad ensayada. Fonollá F y col., (2009) utilizando como en el nuestro 500 mL de leche enriquecida observó en los voluntarios con riesgo cardiovascular moderado que bebieron la leche funcional elevaciones para los niveles de HDLc y disminuciones para los de LDLc y triglicéridos. En el estudio CIBOM no hemos tenido cambios significativos lo cual puede deberse a que la respuesta hipolipemiente a los AGP  $\omega$ -3 es dependiente de los niveles alterados de los pacientes la cantidad añadida de AGP  $\omega$ -3 a nuestra leche fue mucho menor y como dato curioso en su estudio no varió la homocisteína.

Los cambios más relevantes ocurren a nivel de la homocisteinemia, ya que implicaron un cambio global muy significativo durante los 2 y 4 primeros meses de estudio ( $p < 0.001$ ) debido a que en los individuos del grupo A la homocisteína tiende a subir y en los del grupo B a bajar, lo que en términos de cambio relativo o tasa de cambio implicó que la diferencia fuese de alrededor del 25% (**Tabla 66**). La homocisteína es un aminoácido no esencial que se sintetiza en el organismo a partir de la metionina. La única fuente de metionina es la ingesta, principalmente, de proteínas animales. La hiperhomocisteinemia puede deberse tanto a alteraciones hereditarias de los enzimas que intervienen en su metabolismo como a déficits de vitamina B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> y ácido fólico. Un cierto número de poblaciones con alto riesgo cardiovascular (p.ej. celtas e indoasiáticos) han mostrado tasas de deficiencias en la ingesta de folatos y cianocobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) asociados a incrementos en los niveles de homocisteína. Además, se ha observado que aportes externos de dichas vitaminas se han mostrado eficaces para disminuir la homocisteinemia, pero su asociación con una disminución significativa del riesgo cardiovascular sigue siendo objeto de debate (Wierzbicki AS, 2007).

El mayor aporte de folatos en el grupo B respecto a sus valores basales (**Tablas 34 y 39**), podría explicar al menos en parte, la reducción de sus niveles de homocisteína y la diferencia con el grupo A (**Tabla 65**). Los niveles de este marcador en el grupo A tienden a incrementarse durante el periodo 2-4 meses lo que eleva las diferencias. Desconocemos las causas de ligera elevación de la homocisteína en el grupo A, por sus niveles tan elevados de ingesta de vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> pero pudiera estar relacionada con la tendencia a ingestas más bajas de vitamina B<sub>6</sub> o de vitamina B<sub>12</sub> por los voluntarios de este grupo. No obstante, las ingestas de estas dos vitaminas son muy elevadas y en ningún caso las ingestas fueron deficitarias para estas dos vitaminas (**Figura 1**), lo que posiblemente estuvo relacionado con la alta ingesta de carne. En principio no es fácil atribuir este efecto a ningún alimento ya que el aporte de vitamina B<sub>6</sub> deriva de múltiples alimentos tanto de origen animal (hígado, pollo, carne de cerdo, pescado) como vegetal (plátanos, leguminosas, patatas, grano integral, verduras y frutas. Por último, resaltar que aunque los resultados son claros, debemos indicar que existen marcadores genéticos (p.ej. polimorfismos en el gen de la metilen-tetrahidro-folato reductasa, MTHR) que condicionan los niveles de folato disponibles y por tanto de homocisteína en plasma, independientemente de la ingesta de folato o de las otras vitaminas (Sánchez-Muniz y col., 2013). Los efectos observados para homocisteína (**Tabla 65**) son coincidentes con los de Benito y col., 2006 pero en su estudio además disminuyen los valores para CT, LDLc, TG y glucosa; sin embargo difieren de los de Fonollá F y col. (2009) que no encontraron efectos del aporte de una leche enriquecida en AGP  $\omega$ -3 y folatos sobre la homocisteinemia de los voluntarios con riesgo cardiovascular moderado.



## **6.RESUMEN Y CONCLUSIONES**



## 6. RESUMEN y CONCLUSIONES

La enfermedad celiaca (EC) es una enteropatía del intestino delgado que afecta alrededor del 1-3% de la población en el mundo. Atañe a individuos genéticamente predispuestos y está provocada por la exposición al gluten, que es el factor indispensable para desarrollarla. Asociada a la presentación de la EC y debido a la inflamación crónica de la mucosa del intestino delgado, se producen síntomas como anemia, diarrea crónica, dolor abdominal y malnutrición.

Hasta la fecha no existe otro tratamiento específico que la estricta dieta sin gluten, pero es complicado evaluar el cumplimiento de dicha dieta, ya que el gluten se encuentra en una elevada diversidad de alimentos dado su valor como aglutinante, espesante, etc. y tampoco existe ningún método fiable que permita saber si la “Dieta sin gluten” es seguida de forma rigurosa. Además, muchos clínicos no son partidarios de que se realicen nuevas biopsias por lo que la utilización de diferentes biomarcadores llega a ser relevante para el seguimiento de la enfermedad. Debido a la eliminación de alimentos convencionales conteniendo gluten y al elevado precio de los alimentos que no lo contienen, existe el riesgo de reducir de forma importante el contenido de alimentos ricos en carbohidratos y de algún micronutriente, elevando por otro lado el consumo de alimentos ricos en grasa y proteínas, situación que podría agravar entre otros aspectos el perfil cardiovascular y la situación proinflamatoria asociada. Es por ello que la utilización de alimentos funcionales (p.ej. enriquecidos en ácidos grasos poliinsaturados (AGP)  $\omega$ -3 y folatos) que mejoren tanto el estatus nutricional como el fisiológico adquiere gran importancia en la EC.

En esta memoria de Tesis Doctoral se ha procedido a estudiar en sujetos diagnosticados de EC, los efectos del consumo diario de 500mL de leche semidesnatada enriquecida en AGP  $\omega$ -3 de muy larga cadena (eicosapentaenoico y docosahexaenoico) y folatos frente a otra semidesnatada control. Se diseñó un estudio controlado, aleatorizado, doble ciego en paralelo, de seis meses de duración. Los criterios de inclusión fueron estar diagnosticados de EC, llevar una dieta exenta de gluten y tomar asiduamente leche. Los voluntarios se comprometían a consumir 500mL/día de la leche asignada, y a no cambiar la alimentación ni la actividad física habitual. Se contactó con 60 voluntarios, de los que 39, 29 mujeres y 10 hombres con edades entre los 15 y 71 años, finalizaron el estudio. Veinte de ellos recibieron la leche control (A), y 19 la leche B. Terminado el estudio se procedió a abrir las “plicas” y a conocer la naturaleza de las leches ensayadas, resultando la leche B la “funcional”.

Con el fin de conocer el impacto de la leche funcional (enriquecida en AGP  $\omega$ -3 y folatos), se estudiaron basalmente y después de 2, 4 y 6 meses de estudio a) la calidad de la dieta (ajustes a las RDA, perfil lipídico, perfil calórico, cociente  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 e índice de alimentación saludable); b) marcadores antropométricos (IMC); c) perfil de ácidos grasos séricos; d) recuento celular y concentraciones de proteínas sanguíneas y marcadores de funcionalidad hepática (transaminasas y fosfatasa alcalina); e) concentraciones de marcadores de inflamación (PCR, TNF $\alpha$ , IL2, IL6) y daño de la mucosa intestinal (antiendomiso, antitransglutaminasa y anti gliadina A<sub>2</sub>); f) riesgo cardiovascular (lípidos, lipoproteínas, cocientes de riesgo y homocisteína).

Los resultados obtenidos permiten concluir:

**A Sobre el peso al nacer, la lactancia, e introducción de alimentos y diagnóstico de enfermedad**

1. La gran mayoría de los voluntarios refirieron peso normal al nacer, al menos 3 meses de lactancia materna e incorporación de alimentos con gluten después de seis meses de vida, y se les diagnosticó la enfermedad entre los 15 y 40 años

**B. Sobre los marcadores antropométricos y hábitos tóxicos.**

2. 23% tenían sobrepeso tipo II u obesidad tipo I, 28% fumaban, 10% bebían al menos 1 consumición/día y 38% eran sedentarios.

**C. Sobre las características basales de la dieta y de los marcadores utilizados.**

3. Un porcentaje relativamente elevado de los voluntarios presentó ingestas deficitarias de hierro y zinc y vitaminas (vitamina E, folatos y vitamina D). La dieta de los voluntarios era rica en lácteos, carnes, frutas y verduras y puede definirse hipohidrocarbonada, hiperproteica, hipergrasa y con alto contenido en AGS. El consumo de aceite de oliva aseguraba un perfil graso aceptable en cuanto a la relación AGS/AGM/AGP, con un cociente  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 próximo a 4. La calidad de la dieta según el IAS fue inaceptable con muy baja puntuación para cereales, y variedad de la dieta
4. En la gran mayoría de los voluntarios el tamaño y número de eritrocitos, su contenido en hemoglobina, la fórmula y recuento leucocitario, así como el número de plaquetas estuvo dentro de los intervalos de normalidad, desechándose la presencia de anemia.
5. El riesgo cardiovascular fue reducido atendiendo al valor de los lípidos lipoproteínas, cocientes de riesgo y homocisteína de los voluntarios.

**D. Sobre las características y diferencias basales de los marcadores en los dos grupos experimentales.**

6. No se encontraron diferencias entre los dos grupos experimentales en las características al nacer, tipo de lactancia e introducción de cereales o de leche de vaca, en la edad y los síntomas de diagnóstico
7. El contenido en macro y micronutrientes de la dieta basal no difirió entre ambos grupos. No obstante la calidad de la dieta basal del grupo que recibió la leche funcional fue más baja.
8. A nivel basal no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos excepto para el título de anticuerpo antiendomisio que fue más elevado y de los cocientes de riesgo CT/HDLc y LDLc/HDLc que fue menor en los pacientes que fueron adscritos al grupo de leche funcional.

**E. Sobre los cambios debidos al consumo de la leche funcional.**

**e.1. Cambios dietéticos**

9. No se observan cambios relevantes en el aporte de macronutrientes durante el estudio, excepto en el caso de los AGP  $\omega$ -3 que se elevaron alrededor de un 14% (EPA 4,5 veces, DHA 2,5 veces). Las diferencias en las tasas de cambio absolutas y relativas se reducen con la duración del estudio. Entre los cambios a destacar señalar a los dos meses una mayor ingesta de hidratos de carbono y fibra.
9. Respecto a los micronutrientes las tasas de cambio para los minerales tendió a ser más favorable para los individuos del grupo B, reduciéndose las diferencias en los cambios con la duración del estudio. También para las vitaminas los cambios a los dos meses

fueron favorables para el grupo B, especialmente para el aporte de folatos, vitamina B6 y Vitamina E que se incrementó de forma muy significativa reduciendo la prevalencia de individuos con ingestas reducidas

10. Las diferencias en la calidad global de la dieta basal o índice de alimentación saludable, desaparecen por el tratamiento, particularmente a los dos meses y atribuibles al concepto variedad de la misma.

#### **e.2. cambios en el perfil de ácidos grasos del suero**

11. El contenido de ácido eicosapentaenoico y de AGP  $\omega$ -3 (% del total de ácidos grasos y en g/dL) fue más elevado y la relación linolénico/eicosapentaenoico menor en el grupo B particularmente durante los 4 primeros meses de estudio.

#### **e.3. cambios en los biomarcadores**

12. No se observaron cambios relevantes ni significativos en el recuento eritrocitario, el contenido de hemoglobina, el recuento y fórmula leucocitaria, en el recuento de plaquetas. En ningún caso se detectó anemia. Tampoco se observaron diferencias en el ácido úrico o proteínas totales y bilirrubina
13. Los marcadores de funcionalidad hepática permanecieron muy uniformes durante todo el estudio. La reducción de fósforo en plasma a los dos meses en el grupo de la leche funcional fue el cambio más relevante de los minerales en suero.
14. El consumo de la leche funcional no afectó a los niveles marcadores inflamatorios. Las diferencias basales en el título de anticuerpo antiendomiso entre los dos grupos desaparecen durante el estudio. El aporte de leche funcional reduce los niveles de anti gliadina A<sub>2</sub> (IgA<sub>2</sub>) a los 2 meses, lo que se considera un aspecto relevante, aunque tal efecto desaparece posteriormente.
15. Respecto a los factores de riesgo cardiovascular los cambios más relevantes suceden a nivel de la homocisteína de los individuos del grupo B. La tasa global de cambio fue alrededor del 25% durante los 4 meses primeros de estudio, reduciéndose posteriormente a un 15%

### **Conclusión general**

Excepto para la cantidad y contribución energética de los AGP  $\omega$ -3, y cociente  $\omega$ -6/ $\omega$ -3, de folatos, vitamina B6, y vitamina E, la inclusión del lácteo funcional respecto al del lácteo control no afectó de forma relevante a la calidad de la dieta, haciendo posible asociar los cambios en los diferentes marcadores con el consumo de los lácteos estudiados. No fue posible relacionar los cambios observados en los diferentes marcadores con las características al nacimiento dada las características de normalidad en la mayoría de ellos.

La biodisponibilidad de los ingredientes funcionales presentes en la leche funcional es elevada dada el incremento observado en suero de los AGP  $\omega$ -3 y la reducción de la homocisteína. Las concentraciones utilizadas en la leche experimental no fueron efectivas reduciendo algunos marcadores de inflamación, la trigliceridemia o mejorando el perfil lipoproteico de los voluntarios. Esto parece relacionado con los niveles reducidos de tales marcadores al inicio del estudio y los marcadores inflamatorios. En ningún caso, excepto para la IgA<sub>2</sub>, y el fósforo, la leche funcional modificó de forma negativa los niveles de los diferentes biomarcadores ensayados, sugiriendo la seguridad de su utilización a largo plazo en pacientes celíacos, si bien los efectos tienden a reducirse con el tiempo de ensayo.

Dados los niveles basales de los pacientes, creemos importante realizar un estudio similar en paciente diagnosticados *de novo* para EC, donde los niveles de marcadores de daño e



inflamación serían mucho más elevados y por tanto más susceptibles de ser reducidos por el aporte de estas leche funcional.

## **7. REFERENCIAS**



## 7. Bibliografia

- Abel EK. (2010). The rise and fall of celiac disease in the United States. *J Hist Med Allied Sci*; 65(1): 81-105
- Ackman RG. (2008b). Application of gas-liquid chromatography to lipid separation and analysis: Qualitative and quantitative analysis. In Chow, C.K., ed., *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, London, UK; pp: 47-65. CRC Press,
- AFFSA, Agence Francaise de securité Sanitaire des aliments. (2003). The omega-3 Fatty Acids and the Cardiovascular System: Nutritional benefits and claims
- Agostoni C, Riva E, Giovannini M, Pinto F, Colombo C, Risé P, Galli C, Marangoni F. (2008). Maternal smoking habits are associated with differences in infants long chain long polyunsaturated fatty acids in whole blood: a case-control study. *Arch.Dis.Child*; 93(5): 414-418.
- Albarracín C, Fuqua B, Geohas J, Juturu V, Finch MR, Komorowski JR. (2007) Combination of chromium and biotin improves coronary risk factors in hypercholesterolemic type 2 diabetes mellitus: a placebo—controlled, double-blind randomized clinical trial. *J Cardiometa Syndr*; 2: 91-97.
- Albert CM, Cook NR, Gaziano JM, Zaharris E, MacFadyen J, Danielson E, Buring JE, Manson JE. (2008) Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: a randomized trial. *JAMA*: 299: 2027-2036.
- Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM (2003). Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III); National Cholesterol Education Program (NCEP). NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes*; 52: 1210-1214.
- Almallah YZ, El Tahir A, Heys SD. (2000). Distal proctocolitis and n-3 polyunsaturated fatty acids: The mechanism (s) of natural cytotoxicity inhibition. *Eur J Clin Invest*; 30: 58-
- American Heart Association (AHA) (2006). Scientific statement. Diet and Lifestyle recommendations revision 2006: A scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee *Circulation*; 114: 82-96
- Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, Jewell DP, Hill AV (2000). In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. *Nat Med*; 6(3): 337-342.
- Anderson CM, French JM, Sammons HG, Frazer AC, Gerrard JW, Smellie JM. (1952). Coeliac disease; gastrointestinal studies and the effect of dietary wheat flour. *Lancet* 1(17): 836-842
- Andersen LF, Solvoll K, Johansson LR, Salminen I, Aro A, Drevon CA. (1999). Evaluation of a food frequency questionnaire with weighed records, fatty acids, and alpha-tocopherol in adipose tissue and serum. *Am J Epidemiol*; 150(1): 75-87
- Arab L. (2003). Biomarkers of fat and fatty acid intake. *J Nutr*; 133(Suppl 3): 925S-932S
- Arce T, Argüelles F, Arranz E, Camarero C, Esteban B, Fonseca E, Gálvez G, García MD, Herreras JM, Márquez M, Polanco I, Ribes C, Donat E, Blesa L, Baviera, Rodrigo L, Rodríguez JA, Ruiz M,

- Saucedo A, Silva G, Villar JL. (2008). Aspectos ginecológicos. En *Todo sobre la enfermedad celiaca*. Ed consejería de sanidad y consumo. Madrid 67-71
- Arentz-Hansen H, McAdam SN, Molberg O, Fleckenstein B, Lundin KE, Jorgensen TJ, Jung G, Roepstorff P, Sollid LM (2002). Celiac lesion T cells recognize epitopes that cluster in regions of gliadins rich in proline residues. *Gastroenterology*; 123(3): 803-809.
- Armesto RA, Díaz JLD, Peromingo JD, González AR, Mao MC, Martínez FDL. (2011). Lípidos, colesterol y lipoproteínas. *Galicia Clínica*; 72(1): 7-17
- Arsenault LN, Matthan N, Scott TM, Dallal G, Lichtenstein AH, Folstein MF, Rosenberg I, Tucker KL. (2009). Validity of estimated dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid intakes determined by interviewer-administered food frequency questionnaire among older adults with mild-to-moderate cognitive impairment or dementia. *Am J Epidemiol*; 170(1): 95-103
- Arterburn LM, Hall EB, Oken H. (2006) Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans *Am J Clin Nutr*; 83(6.suppl): 1467S-1476S
- Aslan A, Triadafilopoulos G. (1992). Fish oil fatty acid supplementation in active ulcerative colitis: a double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Am J Gastroenterol*; 87(4): 432-437
- Asztalos BF, De la Llera-Moya M, Dallal GE, Horvath KV, Schaefer EJ, Rothblat GH. (2005). Differential effects of HDL subpopulations on cellular ABCA1- and SR-BI mediated cholesterol efflux. *J Lipid Res*; 46: 2246-2253
- Baer DJ, Judd JT, Kris-Etherton PM, Zhao G, Emken EA. (2003). Stearic acid absorption and its metabolizable energy value are minimally lower than those of other fatty acids in healthy men fed mixed diets. *J. Nutr*; 133(12): 4129-4134.
- Bai JC, Fried M, Corazza GR, Schuppan D, Farthing M, Catassi C, Greco L, Cohen H, Ciacci C, Fasano CA, González A, Krabshuis JH, LeMair A. (2012). *Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología Enfermedad celíaca*
- Balk E.M, Lichtenstein A.H, Chung, M, Kupelnick B, Chew P, Lau J. (2006). Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: a systematic review. *Atherosclerosis*, 189: 19-30.
- Ballabriga Aguado A. (1949). Tratamiento de la enfermedad celíaca con especial consideración a sus aspectos dietéticos. *Acta Ped Esp*; 7: 1519-1541.
- Baldwin N, Rice R. (2004). on behalf of the joint Health Claims Initiative expert committee on Omega 3
- Bangert SK. (1995). The clinical biochemistry of nutrition. En: *Clinical biochemistry: metabolic and clinical aspects*. Marshal WJ, Bangert SK (Eds). Churchill Livingstone, Edimburgo; pp: 173-198
- Bantle JP. (2009). Dietary fructose and metabolic síndrome and diabetes. *J Nutr*; 139: 1263S-1268S.
- Barada K, Abu Daya H, Rostami K, Catassi C. (2012). Celiac disease in the developing world. *Gastrointest Endosc Clin N Am*; 22(4): 773-796.

Barber MD, Ross JA, Voss AC, Tisdale MJ, Fearon KC. (1999). The effect of an oral nutritional supplement enriched with fish oil on weight-loss in patients with pancreatic cancer. *Br J Cancer*; 81(1): 80-86

Barbosa VM, Miles EA, Calhau C, Lafuente E, Calder PC. (2010). Effects of a fish oil containing lipid emulsion on plasma phospholipid fatty acids, inflammatory markers, and clinical outcomes in septic patients: a randomized, controlled clinical trial. *Crit Care*.14(1):R5.doi 10.1186/cc8844.

Barceló-Coblijn G, Murphy EJ, Othman R, Moghadasian MH, Kashour T, Friel JK. (2008). Flaxseed oil and fish-oil capsule consumption alters human red blood cell n-3 fatty acid composition: a multiple-dosing trial comparing 2 sources of n-3 fatty acid. *Am J Clin Nutr*; 88(3): 801-809

Baró L, Fonollá J, Peña JL, Martínez-Férez A, Lucena A, Jiménez J, Boza JJ, López-Huertas E. (2003). n-3 Fatty acids plus oleic acid and vitamin supplemented milk consumption reduces total and LDL cholesterol, homocysteine and levels of endothelial adhesion molecules in healthy humans. *Clin Nutr*; 22(2): 175-182.

Bassi A, Avogaro A, Crepaldi C, Pavan P, Zambon S, Marin R, Macdonald I, Manzato E. (1996). Short-term diabetic ketosis alters n-6 polyunsaturated fatty acid content in plasma phospholipids. *J.Clin.Endocrinol.Metab*; 81(4): 1650-1653.

Bastida S. (2005). Dieta equilibrada. ¿Viejos conceptos, nuevas ideas? En: Derivados cárnicos funcionales: estrategias y perspectivas. Sánchez-Muniz FJ, Jiménez-Colmenero F, Olmedilla-Alonso B (Eds). Fundación Española de Nutrición. Madrid; pp 9-20.

Bastida S, Vaquero MP, Veldhuizen M, Sánchez-Muniz FJ. (2000). Selected trace elements and minerals in cord blood: association with lipids and lipoproteins at birth. *Acta Paediatr*; 89: 1201-1206.

Bates CJ, Thurnham DI. (1997). Biomedical markers of nutrient intake. En: Thurnham DI, Bingham SA, Margetts BM, Nelson M, eds. *Concepts in nutritional epidemiology*, 2ªed. New York: Oxford University Press; pp 170-240

Baylin A, Kabagambe EK, Siles X, Campos H. (2002). Adipose tissue biomarkers of fatty acid intake. *Am J Clin Nutr*; 76(4): 750-757

Beckett CG, Dell'Olio D, Shidrawi RG, Rosen-Bronson S, Ciclitira PJ. (1999). Gluten-induced nitric oxide and pro-inflammatory cytokine release by cultured coeliac small intestinal biopsies. *Eur J Gastroenterol Hepatol*; 11(5): 529-535.

Belalcazar LM, Reboussin DM, Haffner SM, Reeves RS, Schwenke DC, Hoogeveen RC, Pi-Sunyer FX, Ballantyne CM; Look AHEAD (Action for Health in Diabetes) Obesity, Inflammation, and Thrombosis Research Group. Marine omega-3 fatty acid intake: associations with cardiometabolic risk and response to weight loss intervention in the Look AHEAD (Action for Health in Diabetes) study. *Diabetes Care*; 33(1): 197-199

Belch JJ, Ansell D, Madhok R, O'Dowd A, Sturrock RD. (1988) Effects of altering dietary essential fatty acids on requirements for non-steroidal anti-inflammatory drugs in patients with rheumatoid arthritis: a double blind placebo controlled study. *Ann Rheum Dis* 47(2):96-104

- Benito P, Caballero J, Moreno J, Gutiérrez-Alcántara C, Muñoz C, Rojo G, Garcia S, Soriguer FC. (2006). Effects of milk enriched with omega-3 fatty acid, oleic acid and folic acid in patients with metabolic syndrome.; 25(4): 581-587
- Berger E. (1958): Allergic pathogenesis of celiac disease with studies of the splitting up of pathogenic antigens by enzymes. *Bibl Paediatr*; 67: 1–55
- Bernardo D, Garrote JA, Nadal I, Leon AJ, Calvo C, Fernandez-Salazar L, Blanco-Quirós A, Sanz Y, Arranz E (2009). Is it true that coeliacs do not digest gliadin? Degradation pattern of gliadin in coeliac disease small intestinal mucosa; *Gut* 58(6): 886-887
- Bernardo D, Martínez-Abad B, Vallejo-Diez S, Montalvillo E, Benito V, Anta B, Fernández-Salazar L, Blanco-Quirós A, Garrote JA, Arranz E. (2012). Ascorbate-dependent decrease of the mucosal immune inflammatory response to gliadin in coeliac disease patients. *Allergol. Immunopathol*; 40: 3–8.
- Berneis KK, Kraus RM. (2002). Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res*; 43: 1363-1379
- Berry JD, Prineas RJ, van Horn L, Passman R, Larson J, Goldberger J, Snetselaar L, Tinker L, Liu K, Lloyd-Jones DM. (2010). Dietary fish intake and incident atrial fibrillation (from the Women's Health Initiative); 105(6): 844-848
- Biesiekierski JR, Newnham ED, Irving PM, Barrett JS, Haines M, Doecke JD, Shepherd SJ, Muir JG, Gibson PR. (2011). Gluten causes gastrointestinal symptoms in subjects without celiac disease: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Am J Gastroenterol*; 106 (3): 508-514; quiz 515
- Blank C, Neumann MA, Makrides M, Gibson RA. (2002). Optimizing DHA levels in piglets by lowering the linoleic acid to alpha-linolenic acid ratio. *J.Lipid Res*; 43(9): 1537- 1543.
- Blok W.L, Deslyper, J.P, Demacke, P.N, van d V, Hectors, M.P, van der Meer J.W, Katan M.B. (1997). Pro- and anti-inflammatory cytokines in healthy volunteers fed various doses of fish oil for 1 year. *Eur. J. Clin. Invest*; 27: 1003-1008.
- Bowen RA, Wierzbicki AA, Clandinin MT. (1999). Does increasing dietary linolenic acid content increase the docosahexaenoic acid content of phospholipids in neuronal cells of neonatal rats. *Pediatr.Res*; 45(6): 815-819
- Bloedon LT, Balikai S, Chittams J, Cunnane SC, Berlin JA, Rader DJ, Szapary PO. (2008). Flaxseed and cardiovascular risk factors: results from a double blind, randomized, controlled clinical. *J Am Coll Nutr* trial; 27(1): 65-74
- Bonaa KH, Njolstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T, Wang H, Nordrehaug JE, Arnesen E. (2006). Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med*; 354: 1578-1588
- Borkman M, Chisholm DJ, Furler SM, Storlien LH, Kraegen EW, Simons LA, Chesterman CN.(1989). Effects of fish oil supplementation on glucose and lipid metabolism in NIDDM. *Diabetes*; 38(10): 1314-1319
- Bovet P, Faeh D, Madeleine G, Viswanathan B, Paccaud F.(2007). Decrease in blood triglycerides associated with the consumption of eggs of hens fed with food supplemented with fish oil. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*; 17(4): 280-287

- Bueno O, Bueno-Lozano M. (2007). Alimentación complementaria. En: Nutrición en pediatría. 3ª ed. Bueno M, Sarría A, Pérez-González JM (eds.). Ergon, Madrid, pp. 173-178
- Bunea R, Farrah K, Deutsch L. (2004). Evaluation of the effects of Neptune Krill Oil on the clinical course of hyperlipidemia. *Altern Med Rev*; 9(4): 420-428
- Bowden RG, Wilson RL, Deike E, Gentile M. (2009). Fish oil supplementation lowers C-reactive protein levels independent of triglyceride reduction in patients with end stage renal disease *Nutr Clin Pract*; 24(4): 508-512
- Brenna, J.T. (2002). Efficiency of conversion alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*; 5: 127-132.
- Brousseau ME, Stucchi AF, Vespa DB, Schaefer EJ, Nicolosi RJ. (1993). A diet enriched in monounsaturated fats decreases low density lipoprotein concentrations by a different mechanism than does a diet enriched in polyunsaturated fats in Cynomolgus monkeys. *J Nutr*; 123: 2049-2058
- Brown MS, Goldstein JL. (1984). How LDL receptors influence cholesterol and atherosclerosis. *Sci Am*; 251: 58-66
- Brouwer IA, Zock PL, Camm AJ, Böcker D, Hauer RN, Wever EF, Dullemeijer C, Ronden JE, Katan MB, Lubinski A, Buschler H, Schouten EG; SOFA Study Group. (2006). Effect of fish oil on ventricular tachyarrhythmia and death in patients with implantable cardioverter defibrillators: the Study on Omega-3 Fatty Acids and Ventricular Arrhythmia (SOFA) randomized trial. *295(22): 2613-261*
- Burdge GC, Calder PC. (2005). Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reprod. Nutr. Dev*; 45(5): 581-597.
- Cabré Gelada E, Mañosa Ciria M, Gassull Duro MA. (2013). Ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y enfermedad inflamatoria intestinal. En: Libro blanco de los omega 3. Gil Hernández A, Serra Majem L. (eds.) Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, pp. 317.
- Cachaldora P, Garcia-Rebollar P y Alvarez C (2009). Double enrichment of chicken eggs with conjugated linoleic acid and n-3 fatty acids through dietary fat supplementation. *Animal Feed Sci Tech*; 144: 315–326
- Calder PC. (2006). Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins. Leukot Essrnt Fatty Acids*; 75(3): 197-202
- Calder PC, Albers R, Antoine JM, Blum S, Bourdet-Sicard R, Ferns GA, Folkerts G, Friedmann PS, Frost GS, Guarner F. (2009). Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. *Br. J. Nutr*; 101: 1–45.
- Calder PC. (2011). Fatty acids and inflammation: The cutting edge between food and pharma. *Eur. J. Pharmacol*; 668: 50–58.
- Campos H, Baylin A, Willett WC. (2008). Alpha-linolenic acid and risk of nonfatal acute myocardial infarction. *Circulation*. 118(4): 339-345
- Canales A, Sánchez-Muniz FJ (2003). Paraoxonasa, ¿algo más que una enzima?. *Med Clin Barc* 121: 537-548



- Cantwell MM. (2000). Assessment of individual fatty acid intake. *Proc Nutr Soc.* 59(2): 187-191
- Carmena R. (2010). Dyslipidemia in type 2 Diabetes Mellitus. En: *Type 2 diabetes mellitus*. Serrano Ríos M. (Ed). Elsevier, SL. Barcelona, pp. 219-230
- Carrero JJ, López-Huertas E, Salmerón LM, Baró L, Ros E. (2005). Daily supplementation with (n-3) PUFAs, oleic acid, folic acid, and vitamins B-6 and E increases pain-free walking distance and improves risk factors in men with peripheral vascular disease *J Nutr*; 135(6): 1393-1399
- Carrero JJ, Fonollá J, Martí JL, Jiménez J, Boza JJ, López-Huertas E. (2007). Intake of fish oil, oleic acid, folic acid, and vitamins B-6 and E for 1 year decreases plasma C-reactive protein and reduces coronary heart disease risk factors in male patients in a cardiac rehabilitation program. *J Nutr*; 137(2): 384-390
- Carrero JJ, Baró L, Fonollá J, González-Santiago M, Martínez-Férez A, Castillo R, Jiménez J, Boza JJ, López-Huertas E. (2004). Cardiovascular effects of milk enriched with omega-3 polyunsaturated fatty acids, oleic acid, folic acid, and vitamins E and B6 in volunteers with mild hyperlipidemia. *Nutrition*; 20(6): 521-527
- Carrillo-Trip M, & Feller S.E. (2005). Evidence for a mechanism by which -3 polyunsaturated lipids may affect membrane protein function. *Biochem*; 44: 10164-10169
- Carroccio A, Iannitto E, Cavataio F, Montalto G, Tumminello M, Campagna P, Lipari MG, Notarbartolo A, Lacono G (1998). Sideropenic anemia and celiac disease: one study, two points of view. *Dig Dis Sci*; 43(3): 673-678
- Carru C, Pasciu V, Sotgia S, Zinellu A, Nicoli MC, Deiana L, Tadolini B, Sanna B, Masala B, et al. (2011) The oxidative state of LDL is the major determinant of anti/prooxidant effect of coffee on Cu catalysed peroxidation. *Open Biochem J*; 5: 1-8.
- Castro IA, Monteiro VC, Barroso LP, Bertolami MC. (2007). Effect of eicosapentaenoic/docosahexaenoic fatty acids and soluble fibers on blood lipids of individuals classified into different levels of lipidemia *Nutrition*; 23(2): 127-137
- Catassi C, Bearzi I, Holmes GK. (2005). Association of celiac disease and intestinal lymphomas and other cancers. *Gastroenterology*; 128(4 Suppl 1): S79-S86.
- Caughey GE, James MJ, Proudman SM, Cleland LG. (2010). Fish oil supplementation increases the cyclooxygenase inhibitory activity of paracetamol in rheumatoid arthritis patients *Complement Ther Med*; 18(3-4): 171-174
- Cavalli-Sforza LL, Menozzi P, Piazza A. (1993). Demic expansions and human evolution. *Science*; 259(5095): 639-646
- Cawood AL, Ding R, Napper FL, Young RH, Williams JA, Ward MJ, Gudmundsen O, Vige R, Payne SP, Ye S, Shearman CP, Gallagher PJ, Grimble RF, Calder PC. (2010). Eicosapentaenoic acid (EPA) from highly concentrated n-3 fatty acid ethyl esters is incorporated into advanced atherosclerotic plaques and higher plaque EPA is associated with decreased plaque inflammation and increased stability. *Atherosclerosis*. 212(1):252-259
- Celada P, Sánchez-Muniz FJ, Delgado-Pando G, Esparrago-Rodilla M, Jiménez-Colmenero F, Olmedilla-Alonso B. (2016a). Effects of improved fat meat products consumption on emergent cardiovascular disease markers of male volunteers at cardiovascular risk. *J Physiol Biochem*; 72(4): 669-678.

- Celada P, Sánchez-Muniz FJ, Delgado-Pando G, Bastida S, Espárrago Rodilla M, Jiménez-Colmenero F, Olmedilla-Alonso B. (2016b). Cardiovascular disease markers responses in male receiving improved-fat-meat products vary by initial LDL-cholesterol levels. *JONNPR*; 1(6): 229-236.
- Cerchietti LC, Navigante AH, Castro MA. (2007). Effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic n-3 fatty acids from fish oil and preferential Cox-2 inhibition on systemic syndromes in patients with advanced lung cancer. *Nutr Cancer*; 59(1): 14-20
- Chong MF, Lockyer S, Saunders CJ, Lovegrove JA. (2010). Long chain n-3 PUFA-rich meal reduced postprandial measures of arterial stiffness. *Clin Nutr*.29(5): 678-681.
- Chorzelski TP, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Beutner EH, Kumar V. (1983). IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and celiac disease. *Ann NY Acad Sci*; 420: 325–334.
- Ciccocioppo R, Kruzliak P, Cangemi GC, Pohanka M, Betti E, Lauret E, Rodrigo L. (2015). The Spectrum of Differences between Childhood and Adulthood Celiac Disease. *Nutrients*; 7(10): 8733-8751.
- Cleland LG, Caughey GE, James MJ, Proudman SM. (2006). Reduction of cardiovascular risk factors with longterm fish oil treatment in early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*; 33(10): 1973-1979
- Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS, Macatagney R, Musu MP, Di Pierro MR, Drago S, Congia M, Fasano A. (2003). Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut*; 52 (2): 218-223
- Cobiac L, Clifton PM, Abbey M, Belling GB, Nestel PJ. (1991). Lipid, lipoprotein, and hemostatic effects of fish vs fish-oil n-3 fatty acids in mildly hyperlipidemic males *Am J Clin Nutr*; 53(5): 1210-1216
- Conquer JA, Cheryk LA, Chan E, Gentry PA, Holub BJ. (1999). Effect of supplementation with dietary seal oil on selected cardiovascular risk factors and hemostatic variables in healthy male subjects. *Thromb Res*; 96(3): 239-250
- Cook-Mills JM, McCary CA. (2010). Isoforms of vitamin E differentially regulate inflammation. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*; 10: 348–366.
- Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, Milione M, Luinet O, Vindigni C, Chioda C, Albarello L, Bartolini D, Donato F. (2007). Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*; 5 (7): 838-843.
- Criqui MH, Golomb BA. (1998). Epidemiologic aspects of lipids abnormalities. *Am J Med*; 105: 48S-57S
- Cuesta C, Ródenas S, Merinero MC, Rodríguez-Gil S, Sánchez-Muniz FJ. (1998). Lipoproteins profiles and serum peroxide levels of aged women consuming palmolein or oleic acid-rich sunflower oil diets. *Eur J Clin Nutr*; 52: 675-683
- Cuesta C, Sánchez-Muniz FJ, García-La Cuesta A, Garrido R, Castro A, San Felix B, Domingo A. (1989). Effects of age and cigarette smoking on serum concentrations of lipids and apolipoproteins in a male military population. *Atherosclerosis*; 80: 33-39.

- Culp, B.R., Titus, B.G. & Lands, W.E.M. (1979). Inhibition of prostaglandin synthesis by eicosapentaenoic acid. *Prostagl. Leukot. Med.*, 3: 269-278.
- Cunnane SC, Hamadeh MJ, Liede AC, Thompson LU, Wolever TM, Jenkins DJ. (1995). Nutritional attributes of traditional flaxseed in healthy young adults. *Am J Clin Nutr.*61(1): 62-68
- Daniels I, Cavill D, Murray IA, Long RG. (2005). Elevated expression of iNOS mRNA and protein in coeliac disease. *Clin Chim Acta*; 356 (1-2): 134-142.
- Das Gupta AB, Hossain AK, Islam MH, Dey SR, Khan AL. (2009). Role of omega-3 fatty acid supplementation with indomethacin in suppression of disease activity in rheumatoid arthritis Bangladesh Med Res Counc Bull 35(2):63-68
- Dawczynski C, Martin L, Wagner A, Jahreis G. (2010). n-3 LC-PUFA-enriched dairy products are able to reduce cardiovascular risk factors: a double-blind, cross-over study.*Clin Nutr.*29 (5): 592-599
- Dawczynski C, Martin L, Wagner A, Jahreis G. (2010). n-3 LC-PUFA-enriched dairy products are able to reduce cardiovascular risk factors: a double-blind, cross-over study.*Clin Nutr*; 29(5): 592-599
- De Caterina R, Libby P. (1996). Control of endothelial leukocyte adhesion molecules by fatty acids.*Lipids*; 31: S57-S63
- DeGiorgio CM, Miller P, Meymandi S, Gornbein JA. (2008). n-3 fatty acids (fish oil) for epilepsy, cardiac risk factors, and risk of SUDEP: clues from a pilot, double-blind, exploratory study.*Epilepsy Behav.*13(4): 681-684
- DeLany JP, Windhauser MM, Champagne CM, Bray GA. (2000). Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *Am.J.Clin.Nutr*; 72(4): 905-911
- Delgado-Pando G, Celada P, Sánchez-Muniz FJ, Jiménez-Colmenero F, Olmedilla-Alonso B. (2014). Effects of improved fat content of frankfurters and pâtés on lipid and lipoprotein profile of volunteers at increased cardiovascular risk: a placebo-controlled study. *Eur J Nutr*; 53: 83-93.
- De Stefano D, Maiuri MC, Iovine B, Ialenti A, Bevilacqua MA, Carnuccio R. (2006). The role of NF-kappaB, IRF-1, and STAT-1alpha transcription factors in the iNOS gene induction by gliadin and IFN-gamma in RAW 264.7 macrophages. *J Mol Med*; 84 (1): 65-74.
- Dicke Wk, weijers HA, van De Kamer JM. (1953). Coeliac disease II. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. *Acta paediatr*; 42 (1): 34-42
- Dietschy JM. (1998). Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. *J Nutr*; 128: 444S-448S
- Din JN, Harding SA, Valerio CJ, Sarma J, Lyall K, Riemersma RA, Newby DE, Flapan AD. (2008). Dietary intervention with oil rich fish reduces platelet-monocyte aggregation in man; 197(1): 290-296
- Djoussé L, Gaziano JM, Buring JE, Lee IM. (2011). Dietary omega-3 fatty acids and fish consumption and risk of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.*93(1): 143-150

Dodin S, Cunnane SC, Mâsse B, Lemay A, Jacques H, Asselin G, Tremblay-Mercier J, Marc I, Lamarche B, Légaré F, Forest JC. (2008). Flaxseed on cardiovascular disease markers in healthy menopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition*; 24 (1): 23-30

DRAE. Real Academia Española. (2014). Diccionario de la lengua Española (23ª ed). Espasa. Madrid

Dry J, Vincent D. (1991). Effect of a fish oil diet on asthma: results of a 1-year double-blind study. *Int Arch Allergy Appl Immunol*; 95(2-3): 156-157

Duplus E, Glorian M, Forest C. (2000). Fatty acid regulation of gene transcription. *J Biol Chem*. 275(40): 30749-30752

EFSA. (2005). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and allergies on a request from the Commission related to nutrition claims concerning omega-3 fatty acids, monounsaturated fat, polyunsaturated fat and unsaturated fat. *EFSA J*; 253: 1-29

EFSA. (2009). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids). *EFSA J*; 1176: 1-11

Egert S, Somoza V, Kannenberg F, Fobker M, Krome K, Erbersdobler HF, Wahrburg U. (2007). Influence of three rapeseed oil-rich diets, fortified with alpha-linolenic acid, eicosapentaenoic acid or docosahexaenoic acid on the composition and oxidizability of low-density lipoproteins: results of a controlled study in healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr*; 61(3): 314-325

Egert S, Kannenberg F, Somoza V, Erbersdobler HF, Wahrburg U. (2009). Dietary alpha-linolenic acid, EPA, and DHA have differential effects on LDL fatty acid composition but similar effects on serum lipid profiles in normolipidemic humans. *J Nutr*. 139(5): 861-868

Ellis J. (2002). Coeliac disease and other gluten-sensitive disorders. En: Buttriss J (ed): *Adverse Reactions to Food*. Blackwell Science, London pp 112–130.

Engeset D, Alsaker E, Lund E, Welch A, Khaw KT, Clavel-Chapelon F, Thiébaud A, Chajès V, Key TJ, Allen NE, Amiano P, Dorronsoro M, Tjønneland A, Stripp C, Peeters PH, van Gils CH, Chirlaque MD, Nagel G, Linseisen J, Ocké MC, Bueno-de-Mesquita HB, Sacerdote C, Tumino R, Ardanaz E, Sánchez MJ, Panico S, Palli D, Trichopoulou A, Kalapothaki V, Benetou V, Quirós JR, Agudo A, Overvad K, Bjerregaard L, Wirfält E, Schulz M, Boeing H, Slimani N, Riboli. (2006). Fish consumption and breast cancer risk. The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer*; 119(1): 175-182

Erkkilä AT, Lichtenstein AH, Mozaffarian D, Herrington DM. (2004). Fish intake is associated with a reduced progression of coronary artery atherosclerosis in postmenopausal women with coronary artery disease. *Am J Clin Nutr*; 80(3): 626-632

ESPGHAN European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease

Esteve-Comas M, Núñez MC, Fernández-Bañares F, Abad-Lacruz A, Gil A, Cabré E, González-Huix F, Bertrán X, Gassull MA. (1993). Abnormal plasma polyunsaturated fatty acid pattern in non-active inflammatory bowel disease *Gut*; 34(10): 1370-1373

Estévez-González MD, Saavedra-Santana P, Betancor-León P. (1998). Reduction of serum cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol levels in a juvenile population after isocaloric substitution of whole milk with a milk preparation (skimmed milk enriched with oleic acid). *J Pediatr*; 132(1): 85-89

Ezaki O, Takahashi M, Shigematsu T, Shimamura K, Kimura J, Ezaki H, Gotoh T. (1999). Long term effects of dietary alpha-linolenic acid from perilla oil on serum fatty acids composition and on the risk factors of coronary heart disease in Japanese elderly subjects. *J.Nutr.Sci.Vitaminol. (Tokyo)*; 45(6): 759-762

Faber J, Berkhout M, Vos AP, Sijben JW, Calder PC, Garssen J, van Helvoort A. (2011). Supplementation with a fish oil-enriched, high-protein medical food leads to rapid incorporation of EPA into White blood cells and modulates immune responses within one week in healthy men and women *J Nutr*; 141(5): 964-970

Fahs CA, Yan H, Ranadive S, Rossow LM, Agiovlasitis S, Wilund KR, Fernhall B. (2010). The effect of acute fish-oil supplementation on endothelial function and arterial stiffness following a high-fat meal. *Appl Physiol Nutr Metab*; 35(3): 294-302

Fahy E, Subramaniam S, Brown HA, Glass CK, Merrill AH Jr, Murphy RC, Raetz CR, Russell DW, Seyama Y, Shaw W, Shimizu T, Spener F, van Meer G, VanNieuwenhze MS, White SH, Witztum JL, Dennis EA. (2005). A comprehensive classification system for lipids. *J Lipid Res*; 46(5):839-861

Falchuk ZM, Rogentine GN, Strober W. (1972). Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. *J Clin Invest*; 51: 1602-1605

FAO/OMS. (2010). The Joint FAO/WHO Expert consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition. FAO food and nutrition paper 91. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Roma. ISSN 0254-4725

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO) y fundación iberoamericana de nutrición (FINUT). (2012). Grasas y ácidos grasos en Nutrición Humana. Consulta de Expertos. Estudio FAO Alimentación y Nutrición nº91 (versión español). Granada.

Fasano A. (2009). Surprises from celiac disease. *Sci Am*; 301: 54-61

Fasano A, Catassi C. (2001). Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease an evolving spectrum. *Gastroenterology*; 120: 636-651

Fasano A. (2009). Should we screen for coeliac disease? Yes. *BMJ* 339: b3592.

Fasano A. (2011). Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: The biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev*; 9 (1): 151-175

Fasano A. (2014). Prefacio. En: Guía clínica para los trastornos asociados al gluten colaboradores: Catassi C, Cureton P, Discepolo V, Fasano A, Thomas F, Friedlander J, Guandalini S, Hill I, Hoffenberg EJ, Horvath K, Kramer R, Kupfer S, Kupper C, Lee A, Levy J, Levy-Carrick N, Liu E, Mehta DI, Mehta N, Newland C, Rakitt T, Sapone A, Smadi Y, Sharrett MK, Simpson S, Thompson T. ed Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia

- Fahs CA, Yan H, Ranadive S, Rossow LM, Agiovlasis S, Wilund KR, Fernhall B. (2010). The effect of acute fish-oil supplementation on endothelial function and arterial stiffness following a high-fat meal; *Appl Physiol Nutr Metab*; 35(3): 294-30
- FAO/OMS. (2010) The Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition. FAO food and nutrition paper 91. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Roma. ISSN 0254-4725.
- Fernández MG, Marset JB, Lesmes IB, Izquierdo JQ, Salas XF, Salas Salvadó J. (2012); Grupo de Consenso FESNAD-SEEDO. Resumen del consenso FESNAD-SEEDO: recomendaciones nutricionales basadas en la evidencia para la prevención y el tratamiento del sobrepeso y la obesidad en adultos. *Endocrinol Nutr*; 59(7): 429-437.
- Ferrante A. (2007). Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. *J Intern Med*; 262(4): 408-414
- Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, Saturni L. (2012). Celiac disease, inflammation and oxidative damage: A nutrigenetic approach. *Nutrients* 4, 243-257.
- Feskens EJ, Virtanen SM, Räsänen L, Tuomilehto J, Stengård J, Pekkanen J, Nissinen A, Kromhout D. (1995). Dietary factors determining diabetes and impaired glucose tolerance. A 20-year follow-up of the Finnish and Dutch cohorts of the Seven Countries Study. *Diabetes Care*; 18(8): 1104-1112
- Feskens EJ, Bowles CH, Kromhout D. (1991). Inverse association between fish intake and risk of glucose intolerance in normoglycemic elderly men and women. *Diabetes Care*; 14(11): 935-941
- Fidanza F. (2002). Indicadores bioquímicos de la ingesta alimentaria. *Rev Esp Nutr Com*; 8: 46-50
- Finnegan YE, Minihane AM, Leigh-Firbank EC, Kew S, Meijer GW, Muggli R, Calder PC, Williams CM. (2003) Plant- and marine-derived n-3 polyunsaturated fatty acids have differential effects on fasting and postprandial blood lipid concentrations and on the susceptibility of LDL to oxidative modification in moderately hyperlipidemic subjects. *Am J Clin Nutr*; 77(4): 783-795
- Fischer C, Kordas K, Stoltzfus R, Black R. (2005). Interactive effects of iron and zinc on biochemical and functional outcomes in supplementation trials. *The American Journal of clinical Nutrition*; 82: 5-12
- Fonollá J, López-Huertas E, Machado FJ, Molina D, Alvarez I, Mármol E, Navas M, Palacín E, García-Valls MJ, Remón B, Boza JJ, Martí JL. (2009). Milk enriched with "healthy fatty acids" improves cardiovascular risk markers and nutritional status in human volunteers. *Nutrition*; 25(4): 408-414
- Fonseca Capdevila E. (2008). Trastornos de la cohesión epidérmica. En: Vilata Corell JJ, ed. *Manual de Dermatología y Venereología. Atlas y texto*. Editorial Médica Panamericana, Madrid; 329-345
- Francois CA, Connor SL, Bolewicz LC, Connor WE. (2003). Supplementing lactating women with flaxseed oil does not increase docosahexaenoic acid in their milk. *Am.J.Clin.Nutr*; 77(1): 226-233.

- Friday KE, Childs MT, Tsunehara CH, Fujimoto WY, Bierman EL, Ensink JW. (1989). Elevated plasma glucose and lowered triglyceride levels from omega-3 fatty acid supplementation in type II diabetes. *Diabetes Care*; 12(4): 276-281
- Fucrat JC, Geteire C de, Delfly B, Castro GR. (1994). Apolipoprotein A-I containing particles and reverse cholesterol transport: Evidence for connection between cholesterol efflux and atherosclerosis risk. *Atherosclerosis*; 10: S35-S39
- Gabay C, Kushner I. (1999). Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*; 340: 448-454.
- Galarraaga B, Ho M, Youssef HM, Hill A, McMahon H, Hall C, Oqston S, Nuki G, Belch JJ. (2008). Cod liver oil (n-3 fatty acids) as a non-steroidal anti-inflammatory drug sparing agent in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*; 47(5): 665-669
- Galbe Sánchez-Ventura J. (2016). Prevención y cribado de la enfermedad celíaca. En *Recomendaciones Previnfad/PAPPS* <http://www.aepap.org/previnfad/celiaca.htm>
- Galli C, Calder PC. (2009). Effects of fat and fatty intake on inflammatory and immune response critical review. *Ann Nutr Metab*; 55(1-3): 123-139
- Galvez Bueno G. (2007). Aspectos ginecológicos. En: *Todo sobre la enfermedad celiaca*. Asociación de celíacos de Madrid (Coordinador). Ed: Consejería de Sanidad y Consumo. Madrid. pp 67-71
- García Almeida JM, García Alemán J, Martínez Alfaro B, Vilchez López FJ, Maraver Selfa S. (2012). Enfermedad celiaca, dieta controlada en gluten. En: de Luis Román D A, Bellido Guerrero D, García Luna PP. (Eds.). *Dietoterapia, Nutrición Clínica y Metabolismo*. Ed: Díaz de Santos. Madrid pp 247-249.
- Garaiova I, Guschina IA, Plummer SF, Tang J, Wang D, Plummer NT. (2007). A randomised cross-over trial in healthy adults indicating improved absorption of omega-3 fatty acids by pre-emulsification. *Nutr J* 25; 6:4
- García Nieto VM. (2013). Historia de la enfermedad celíaca. En: Rodrigo L, Peña AS. (Eds.). *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca*. OmniaScience. Barcelona, España: pp. 45-59
- García Novo MD, Garfía C, Acuña Quirós MD, Asensio J, Zancada G, Barrio Gutiérrez S, Manzanares J, Solís Herruzo JA. (2007). Prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors in the autonomous community of Madrid. *Rev Esp Enferm Dig*; 99(6): 337-34
- García Peris P, Cambor M, de la Cuerda C, Bretón I. (2001). Recomendaciones nutricionales en la enfermedad celíaca. En: *Manual de recomendaciones nutricionales de alta hospitalaria*. León M y Celaya S (Eds.). Novartis Consumer Health S.A. Barcelona, pp. 51-56.
- Garg ML, Snowswell AM, Sabine JR. (1986). Influence of dietary cholesterol on desaturase enzymes of rat liver microsomes. *Prog.Lipid Res*; 25(1-4): 639-644.
- Garg, A. (1998). High-monounsaturated-fat diets for patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr*; 67: 577S-582S.

Garry PJ, Koehler KM. (1990). Problems in interpretation of dietary and biochemical data from population studies. En: Brown ML, ed. Present Knowledge in nutrition. Washinton: International Life Sciences Institute. Nutrition Foundation; pp 407-414

Gasbarrini G, Mangiola F. (2014). Wheat-related disorders: A broad spectrum of 'evolving' diseases. United European Gastroenterol J; 2(4): 254-26

Geppert J, Kraft V, Demmelmair H, Koletzko B. (2006). Microalgal docosahexaenoic acid decreases plasma triacylglycerol in normolipidaemic vegetarians: a randomised trial. Br.J.Nutr; 95(4): 779-786

Gerster H. (1998). Can adults adequately convert  $\alpha$ -linolenic acid (18:3n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)? Int.J.Vitam.Nutr.Res; 68(3): 159-173.

Gesteiro E, Rodriguez-Bernal B, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. (2012) Maternal diets with low healthy eating index or mediterranean diet adherence scores are associated with high cord-blood insulin levels and insulin resistance markers at birth. Eur J Clin Nutr; 66: 1008-1015.

Gesteiro E, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. (2013). Cord blood lipoproteins, homocysteine, insulin sensitivity/resistance marker profile, and concurrence of dysglycaemia and dyslipaemia in full-term neonates of the Mérida study. Eur J Pediatr; 172: 883-894

Gesteiro Alejas E. (2015). Factores nutricionales, lipoproteicos y hormonales como marcadores precoces de insulinoresistencia y enfermedad cardiovascular en recién nacidos. Facultad de Farmacia, Dpto de Nutrición y Bromatología I. Universidad Complutense de Madrid

Gesteiro E, Bastida S, Barrios L, Sánchez-Muniz FJ. (2018). The triglyceride-glucose index, an insulin resistance marker in newborns? Eur J Pediatr; 177(4): 513-520.

Ghaffari T, Nouri M, Irannejad E, Rashidi M. (2011). Effect of vitamin E and selenium supplement on paraoxonase-1 activity, oxidized low density lipoprotein and antioxidant defense in diabetic rats. BioImpacts; 1: 121-128.

Ghafoorunissa A, Vanni R, Laxmi R, Sesikeran B. (2002). Effects of dietary alpha-linolenic acid from blended oils on biochemical indices of coronary heart diseases in Indians. Lipids; 37(11): 1007-1086.

Giacco R, Cuomo V, Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Meyer BJ, Riccardi G, Rivellese AA. (2007). KANWU Study Group. Fish oil, insulin sensitivity, insulin secretion and glucose tolerance in healthy people: is there any effect of fish oil supplementation in relation to the type of background diet and habitual dietary intake of n-6 and n-3 fatty acids. Nutr Metab Cardiovasc Dis; 17(8): 572-580

Gibson P. (2011). Food intolerance in functional bowel disorders. J Gastroenterol Hepatol; 26(suppl 3): 128-131.

Gil Hernández A, Sanchez de Medina Contreras F. (2010). Comunicación intercelular: Hormonas, eicosanoides y citoquinas. En. tratado de nutrición, tomo I, 2ª ed. Ed Gil A Madrid: Editorial Médica Panamericana; p 43-81

Ginsberg GL, Toal BF. (2009). Quantitative approach for incorporating methylmercury risks and omega-3 fatty acid benefits in developing species-specific fish consumption advice Environ Health Perspect. 117(2): 267-275



- Godley PA, Campbell MK, Miller C, Gallagher P, Martinson FE, Mohler JL, Sandler RS. (1996). Correlation between biomarkers of omega-3 fatty acid consumption and questionnaire data in African American and Caucasian United States males with and without prostatic carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 5(2): 115-119
- Goetzel EJ, Wasserman SI, Gigli I, Austen KF. (1974). Enhancement of random migration and chemotactic response of human leukocytes by ascorbic acid. *J. Clin. Invest*; 53: 813-818.
- Goldman DW, Pickett WC, Goetzel EJ. (1983). Human neutrophil chemotactic and degranulating activities of leukotriene B5 (LTB5) derived from eicosapentaenoic acid *Biochem Biophys Res Commun*; 117(1): 282-288
- Gómez-Juaristi M, González-Torres L, Bravo L, Vaquero MP, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. (2011). Beneficial effects of chocolate on cardiovascular health. *Nutr Hosp*; 26: 289-292.
- Gordillo Bastidas D, Gordillo Bastidas E. (2015) Aplicación de la Nutrigenética y nutrigenómica para el diseño de una dieta personalizada. En: *Nutrición molecular*. Gordillo Bastidas D, Gordillo Bastidas E (Eds.) McGraw Hill Education. México, pp. 482-488.
- Gordillo Bastidas D, Gordillo Bastidas E. (2015). *Nutrición Molecular*. Editorial McGraw Hill education. México
- Gorjão R, Azevedo-Martins AK, Rodrigues HG, Abdulkader F, Arcisio-Miranda M, Procopio J, Curi R. (2009). Comparative effects of DHA and EPA on cell function. *Pharmacol Ther*; 122(1): 56-64
- Goyens PL, Spiker ME, Zock PL, Katan MB, Mensink RP. (2006). Conversion of alpha-linolenic acid in humans is influenced by the absolute amounts of alpha-linolenic acid and linoleic acid in the diet and not by their ratio. *Am.J.Clin.Nutr*; 84(1): 44-53
- Granditsch G, Ludwig H, Polymenidis Z, Wick G. (1973). Letter: Coeliac disease and HL-A8. *Lancet*; 2(7834): 908-909.
- Green P, Riley J. (1981). Lipid absorption and intestinal lipoprotein formation. *Aust N Z J Med*; 11(1); 84-90
- Griffin M.D, Sanders T.A, Davies I.G, Morgan L.M, Millward D.J, Lewis F, Slaughter S, Cooper J.A, Miller G.J, Griffin B.A. (2006). Effects of altering the ratio of dietary n-6 to n-3 fatty acids on insulin sensitivity, lipoprotein size, and postprandial lipemia in men and postmenopausal women aged 45-70 y: the OPTILIP Study. *Am. J. Clin. Nutr*; 84: 1290-1298
- Guarino A, Lo Vecchio A, Berni Canani R. (2012). Chronic diarrhoea in children. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*; 26(5): 649-661.
- Gujral N, Freeman HJ, Thomson AB. (2012). Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World J Gastroenterol*; 18(42): 6036-6059.
- Gurr, M.L, Harwood, J.L. (1991). *Lipid Biochemistry: An Introduction*, 4th ed. Chapman and Hall, London, UK.
- Gutiérrez-Fuentes JA. (2016). Diet and risk of cardio-vascular diseases in Spain. The DRECE project. *An Real Acad Farm*; 82: 172-181
- Harper CR, Edwards MC, Jacobson TA. (2006). Flaxseed oil supplementation does not affect plasma lipoprotein concentration or particle size in human subjects. *J Nutr*; 136(11): 2844-2848

- Harris WS. (1997). n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr*; 65: 1645S-1654S.
- Harris WS, Miller M, Tighe AP, Davidson MH, Schaefer EJ. (2007). Omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk: clinical and mechanistic perspectives. *Atherosclerosis*; 197(1): 12-24
- Harrison RA, Sagara M, Rajpura A, Armitage L, Birt N, Birt CA, Yamori Y. (2004). Can foods with added soya-protein or fish-oil reduce risk factors for coronary disease? A factorial randomised controlled trial. *Nutr.Metab.Cardiovasc.Dis*; 14(6): 344-350
- Hawthorne AB, Daneshmend TK, Hawkey CJ, Belluzzi A, Everitt SJ, Holmes GK, Malkinson C, Shaheen MZ, Willars JE. (1992). Treatment of ulcerative colitis with fish oil supplementation: a prospective 12 month randomised controlled trial. *Gut*; 33(7): 922-928
- He J, Penson S, Powers SJ, Hawes C, Shewry PR, Tosi P. (2013). Spatial patterns of gluten protein and polymer distribution in wheat grain. *J Agric Food Chem*.61v: v6207-6215.
- Health Council of the Netherlands. (2006). The Hauge: Health Council of the Netherlands publication no.2006/21E.Guidelines for a healthy diet
- Hebert JR, Ma Y, Clemow L, Ockene IS, Saperia G, Stanek EJ<sup>rd</sup>, Merriam PA, Ockene JK. (1997). Gender differences in social desirability and social approval bias in dietary selfreport. *Am J Epidemiol*; 146(12): 1046-1055
- Heirdge GC, Wootton SA. (2002). Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. *Br.J.Nutr*; 88(4): 411-420.
- Hernández A, Rangel Huerta OD, Mesa García MD, Aguilera García CM. (2013). Ácidos grasos poliinsaturados omega-3 e inflamación. En: Libro blanco de los omega 3. Gil Hernández A , Serra Majem L. (eds,) Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, pp. 243-260.
- Hijaz NM, Bracken JM, Chandratre SR. (2014). Celiac crisis presenting with status epilepticus and encephalopathy. *Eur J Pediatr*; 173(12): 1561-1564
- Hjartaker A, Lund E, Bjerve KS. (1997). Serum phospholipid fatty acid composition and habitual intake of marine foods registered by a semi-quantitative food frequency questionnaire. *Eur J Clin Nutr*.51(1): 736-742
- Hodge AM, Simpson JA, Gibson RA, Sinclair AJ, Makrides M, O'Dea k, English DR, Giles GC. (2007). Plasma Phospholipid fatty acid composition as a biomarker of habitual dietary fat intake in an ethnically diverse cohort. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*; 17(6): 415-426
- Hoffman D, Ziegler E, Mitmesser SH, Harris CL, Diersen-Schade DA. (2008). Soy-based infant formula supplemented with DHA and ARA supports growth and increases circulating levels of these fatty acids in infants. *Lipids*; 43(1): 29-35
- Howlet J. (2008) Functional foods from science to health and claims. ILSI Europe Concise monograph series. ILSI Press, Washington, DC.
- Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Rimm E, Colditz GA, Hennekens CH, Willett WC. (1997). Dietary fat intake and risk of coronary heart disease in women. *N.Engl.J.Med*; 337(21): 1491-1499.

Huang YS, Horrobin DF, Manku MS. (1985). Short-term effect of dietary cholesterol on tissue n-6 fatty acids in fat-deficient rats. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med*; 178(2): 209-214

Hue S, Mention JJ, Monteiro RC, Zhang S, Cellier C, Schmitz J, Verkarre V, Fodil N, Bahram S, Cerf-Bensussan N, Caillat-Zucman S. (2004). A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity*; 21(3): 367-377.

Hulshof KF, van Erp-Baart MA, Anttolainen M, Becker W, Church SM, Couet C, Hermann-Kunz E, Kesteloot H, Leth T, Martins I, Moreiras O, Moschandreas J, Pizzoferrato L, Rimestad AH, Thorgeirsdottir H, van Amelsvoort JM, Aro A, Kafatos AG, Lanzmann-Petithory D, van Poppel G. (1999). Intake of fatty acids in western Europe with emphasis on trans fatty acids: the TRANSFAIR Study *Eur J Clin Nutr*.53(2): 143-157.

Hunter D. (1998). Biochemical indicators of dietary intake. En: Willett WC, ed *Nutritional epidemiology*, 2<sup>a</sup> ed. New York: Oxford University Press, 174-243

Hunter DJ, Rimm EB, Sacks FM, Stampfer MJ, Colditz GA, Litin LB, Willett WC. (1992). Comparison of measures of fatty acid intake by subcutaneous fat aspirate, food frequency questionnaire, and diet records in a free-living population of US men. *Am J Epidemiol*; 135(4): 418-427

Hutchinson W, Noble GE, Hawkins PN, Pepys MB. (1994). The pentraxins, C-reactive protein and serum amyloid P component are cleared and catabolized by hepatocytes in vivo. *J Clin Invest*; 94: 1390-1396.

International Diabetes Federation, *Diabetes atlas fifth edition* (acceso noviembre, 2012).

Ivarsson A, Hernall O, Stenlund H, Persson LA. (2002). Breast-feeding protects against celiac disease. *Am J Clin Nutr*; 75(5): 914-921

Jabri B, Sollid LM. (2006). Mechanisms of disease: immunopathogenesis of celiac disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*; 3(9): 516-525

Jaturasitha S, Khiaosa-ard R, Pongpiachan P, Kreuzer M. (2009). Early deposition of n-3 fatty acids from tuna oil in lean and adipose tissue of fattening pigs is mainly permanent; 87(2): 693-703

Jones DB, Carter RD, Mann JI. (1986). Indirect evidence of impairment of platelet desaturase enzymes in diabetes mellitus. *Horm Metab.Res*; 18(5): 341-344.

Jump DB. (2002). Dietary polyunsaturated fatty acids and regulation of gene transcription. *Curr Opin Lipidol* 13(2):155-164.

Kaaks R, Riboli E, Sinha R. (1997). biochemical markers of dietary intake. *IARC Sci Publ*; (142): 103-126

Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. (2003). Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*; 361(9372): 1869-1871

Kane JP, Hardman DA, Paulus HE. (1980). Heterogeneity of apolipoprotein B: Isolation of a new species from human chylomicrons. *Proceedings of the Nat Acad Sci*; 77(5): 2465-2469

Kannel WB, Dawber TR, McGee DL. (1980). Perspectives on systolic hypertension. The Framingham Study. *Circulation*; 61(6): 1179-118

Kanel WB. Some lessons in cardiovascular epidemiology from Framingham. *Am J Cardiol.* 1976; 37: 269-282.

Knuiman JT, West CE, Hautvast JG. (1982). Infant and child nutrition: the effects on serum lipids and the consequences in later life. *Bibl Nutr Dieta*; 131-139

Katan MB, Zock PL, Mensink RP. (1995). Trans fatty acids and their effects on lipoproteins in humans. *Annu Rev Nutr*; 15: 473-493.

Katan MB, Deslypere JP, van Birgelen AP, Penders M, Zegwaard M. (1997). Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters, erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-month controlled study. *J Lipid Res*; 38(10): 2012-2022

Kaul U, Sanghvi S, Bahl VK, Dev V, Wasir HS. (1992). Fish oil supplements for prevention of restenosis after coronary angioplasty. *Int J Cardiol*; 35(1): 87-93

Kaul N, Kreml R, Austria JA, Richard MN, Edel AL, Dibrov E, Hirono S, Zettler ME, Pierce GN. (2008). A comparison of fish oil, flaxseed oil and hempseed oil supplementation on selected parameters of cardiovascular health in healthy volunteers. *J Am Coll Nutr*; 27(1): 51-58

Kaushik M, Mozaffarian D, Spiegelman D, Manson JE, Willett WC, Hu FB. (2009). Long-chain omega-3 fatty acids, fish intake, and the risk of type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*; 90(3): 613-620

Kekki M. (1980). Lipoprotein lipase action determining plasma high density lipoprotein cholesterol in adult normolipidaemics. *Atherosclerosis*; 37: 3-50

Kennedy ET, Ohls J, Carlson S, Fleming K. (1995). The Healthy Eating Index: design and applications. *J Am Diet Assoc*; 95: 1103-1108.

Keys A, Menotti A, Aravanis C, Blackburn H, Djordjevic BS, Buzina R, Dontas AS, Fidanza F, Karvonen MJ, Kimura N. (1984). The seven Countries Study: 2289 deaths in 15 years, *Prev Md*; 13: 141-154

Kew S, Mesa MD, Tricon S, Buckley R, Minihaue AM, Yaqoob P. (2004). Effects of oils rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on immune cell composition and function in healthy humans. *Am J Clin Nutr*; 79(4): 674-681

Kew S, Banerjee T, Minihaue AM, Finnegan YE, Muggli R, Albers R, Williams CM, Calder PC. (2003). Lack of effect of foods enriched with plant- or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function *Am J Clin Nutr*; 77(5): 1287-1295

Khandelwal S, Demonty I, Jeemon P, Lakshmy R, Mukherjee R, Gupta R, Snehi U, Niveditha D, Singh Y, van der Knaap HC, Passi SJ, Prabhakaran D, Reddy KS. (2009). Independent and interactive effects of plant sterols and fish oil n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on the plasma lipid profile of mildly hyperlipidaemic Indian adults. *Br J Nutr*; 102(5): 722-732

Kim M, Nam JH, Oh DH, Park Y. (2010). Erythrocyte  $\alpha$ -linolenic acid is associated with the risk for mild dementia in Korean elderly. *Nutr Res*; 30(11): 756-761

Kjos NP, Skrede A, Overland M. (1999). Effect of dietary fish silage and fish fat on growth performance and sensory quality of growing-finishing pigs. *Can.J. Anim.Sci*; 79: 139-147

Klevay LM. (1975). Coronary heart disease: the zinc/copper hypothesis. *Am J Clin Nutr*; 28: 764-770.

- Knutsen SF, Fraser GE, Beeson WJ, Lindsted KD, Shavlik DJ. (2003). Comparison of adipose tissue fatty acids with dietary fatty acids as measured by 24 hour recall and food frequency questionnaire in black and White Adventist: the Adventist Health Study. *Ann Epidemiol*; 13: 119-127
- Kobayashi M, Sasaki S, Kawabata T, Hasegawa K, Akabane M, Tsugane S. (2001). Single measurement of serum phospholipid fatty acid as a biomarker of specific fatty acid intake in middle-aged Japanese men. *Eur J Clin Nutr*; 55(8): 643-650
- Kohlmeier L. (1995). Future of dietary exposure assessment. *Am J Clin Nutr*; 61(Suppl 3): 702S-709S
- Kratz M, Callahan HS, Yang PY, Matthys CC, Weigle DS. (2009). Dietary n-3-polyunsaturated fatty acids and energy balance in overweight or moderately obese men and women: a randomized controlled trial *Nutr Metab (Lond)* 6:24 doi: 10. 1186/1743-7075-6-24
- Kratzer W, Kibele M, Akinli A, Porzner M, Boehm BO, Koenig W, Oeztuerk S, Mason RA, Mao R, Haenle MH (2013). Prevalence of celiac disease in Germany: a prospective follow-up study. *World J Gastroenterol* 19(17): 2612-2620.
- Krauss RM, Eckel RH, Howard B, Appel LJ, Daniels SR, Deckelbaum RJ, Erdman JW Jr, Kris-Etherton P, Goldberg IJ, et al. (2000) AHA Dietary Guidelines: revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation*; 102: 2284-2299.
- Kremer JM, Bigaouette J, Michalek AV, Timchalk MA, Lininger L, Rynes RI, Huyck C, Zieminski J, Bartholomew LE. (1985) Effects of manipulation of dietary fatty acids on clinical manifestations of rheumatoid arthritis. *Lancet* 1(8422):184-187.
- Kremer JM, Jubiz W, Michalek A, Rynes RI, Bartholomew LE, Bigaouette J, Timchalk M, Beeler D, Lininger L. (1987). Fish-oil fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis. A double-blinded, controlled, crossover study *Ann Intern Med* 106(4):497-503
- Kremer JM, Lawrence DA, Jubiz W, DiGiacomo R, Rynes R, Bartholomew LE, Sherman M. (1990): Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis. Clinical and immunologic effects. *Arthritis Rheum* 33(6):810-820
- Kremer JM, Lawrence DA, Petrillo GF, Litts LL, Mullaly PM, Rynes RI, Stocker RP, Parhami N, Greenstein NS, Fuchs BR y col. (1995). Effects of high-dose fish oil on rheumatoid arthritis after stopping nonsteroidal anti-inflammatory drugs: clinical and immune correlates. *Arthritis Rheum* 38(8):1107-1114
- Kris-Etherton PM. (1999). AHA Science Advisory. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. American Heart Association. Nutrition Committee. *Circulation*; 100(11): 1253-1258
- Kris-Etherton PM, Taylor DS, Yu-Poth S, Huth P, Moriarty K, Fishell V, Hargrove RL, Zhao G, Etherton TD. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *Am J Clin Nutr*. 71(1.supp): 179S-188S
- Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. (2003). AHA Nutrition Committee. American Heart Association. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new recommendations from the American Heart Association *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 23(2): 151-152

- Kronberg SL, Barceló-Coblijn G, Shin J, Lee K, Murphy EJ. (2006). Bovine muscle n-3 fatty acid content is increased with flaxseed feeding. *Lipids*; 41(11): 1059-1068
- Kupper C. (2005). Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterol*; 128 (4 Suppl 1): S121-S127.
- Kuriki K, Nagaya T, Tokudome Y, Imaeda N, Fujiwara N, Sato J, Goto C, Ikeda M, Maki S, Tajima K, Tokudome S. (2003). Plasma concentrations of (n-3) highly unsaturated fatty acids are good biomarkers of relative dietary fatty acid intakes: a cross-sectional study. *J Nutr*; 13(11): 3643-3650
- Kwiterovich PO Jr. (2000). The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein and triglycerides: a current review. *Am J Cardiol*; 86: 5L-10L
- Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu b, Gerard C, Thomas K, Rallabhandi P, Shea-Donohue T, Tamiz A, Alkan S, Netzel-Arnett S, Antalis T, Vogel SN, Fasano A. (2008). Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology*; 135 (1): 194-204
- Lands B. (2008). A critique of paradoxes in current advice on dietary lipids. *Prog. Lipid Res*; 47(2): 77-106
- Lankinen M, Schwab U, Erkkilä A, Seppänen-Laakso T, Hannila ML, Mussalo H, Lehto S, Uusitupa M, Gylling H, Oresic M. (2009). Fatty fish intake decreases lipids related to inflammation and insulin signaling a lipidomics approach. *PLoS One*.4(4): e5258
- Lau CS, Morley KD, Belch JJ. (1993). Effects of fish oil supplementation on non-steroidal anti-inflammatory drug requirement in patients with mild rheumatoid arthritis: A double blind placebo controlled study *Br J Rheumatol*; 32 (11): 982-989
- Lee IM, Cook NR, Gaziano JM, Gordon D, Ridker PM, Manson JE, Hennekens CH, Buring JE. (2005). Vitamin E in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer; the Women's Health Study: a randomized controlled trial. *JAMA*; 294: 56-65.
- Lee JY, Hwang DH. (2008). Dietary fatty acids and eicosanoids. In Chow, C.K., ed. *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, Press, London, UK; pp 713-739. CRC
- Lee JY, Sohn KH, Rhee SH, Hwang D. (2001). Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *J. Biol. Chem*; 276: 16683–16689.
- Leffler DA, Green
- Leitzmann MF, Stampfer MJ, Michaud DS, Augustsson K, Colditz GC, Willett WC, Giovannucci EL. (2004). Dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids and the risk of prostate cancer. *Am J Clin Nutr*; 80(1): 204-216
- Lemaitre RN, King IB, Sotoodehnia N, Rea TD, Raghunathan TE, Rice KM, Lumley TS, Knopp RH, Cobb LA, Copass MK, Siscovick DS. (2009). Red blood cell membrane alpha-linolenic acid e and the risk of sudden cardiac arrest *Metabolism*; 58(4): 534-540
- Leng GC, Smith FB, Fowkes FG, Horrobin DF, Ellis K, Morse-Fisher N, Lowe GD. (1994).

Relationship between plasma essential fatty acids and smoking, serum lipids, blood pressure and haemostatic and rheological factors. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*; 51(2): 101-108.

Leon AJ, Garrote JA, Blanco-Quiros A, Calvo C, Fernandez-Salazar L, Del Villar A, Barrera A, Arranz E (2006). Interleukin 18 maintains a long-standing inflammation in coeliac disease patients. *Clin Exp Immunol*; 146(3): 479-485.

Leonard MM, Vasagar B. (2014). US perspective on gluten-related diseases. *Clin Exp Gastroenterol*; 7: 25-37

Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, Halsey J, Qizilbash N, Peto R, Collins R. (2007). Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths. *Prospective Studies Collaboration. Lancet*; 370(9602): 1829-1839

Li D, Bode O, Drummond, H, Sinclair AJ. (2002). Omega-3 (n-3) fatty acids. In Gunstone, F.D., ed. *Lipids for functional foods and nutraceuticals*, Press, UK; pp 225-262, The Oily

Lopez-Garcia E, Schulze MB, Manson JE, Meigs JB, Albert CM, Rifai N, Willett WC, Hu FB. (2004). Consumption of (n-3) fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial activation in women. *J Nutr.* 134(7): 1806-1811

Losowsky MS. (2008). A history of coeliac disease. *Dig Dis*; 26(2): 112-120.

Ludvigsson JF, Fasano A. (2012). Timing of introduction of gluten and celiac disease risk. *Ann Nutr Metab*; 60 Suppl 2: 22-29.

Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, Hadjivassiliou M, Kaukinen K, Kelly CP, Leonard JN, Lundin KE, Murray JA, Sanders DS, Walker MM, Zingone F, Ciacci C. (2013). The Oslo Definitions For Coeliac Disease and Related Terms. *Gut*; 62(1): 43-52.

Ludvigsson JF, Rubio-Tapia A, van Dyke CT, Melton LJ, 3rd, Zinsmeister AR, Lahr BD, Murray J A. (2013). Increasing Incidence of Celiac Disease in a North American population. *Am J Gastroenterol*; 108(5): 818-824.

Lunn J, Theobald HE. (2006). The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutr Bull*; 31(3): 178-224.

Lundin KE, Wijmenga C. (2015). Coeliac disease and autoimmune disease-genetic overlap and screening. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*; 12(9): 507-515.

Luo J, Rizkalla SW, Vidal H, Oppert JM, Colas C, Boussairi A, Guerre-Millo M, Chapuis AS, Chevalier A, Durand G, Slama G. (1998). Moderate intake of n-3 fatty acids for 2 months has no detrimental effect on glucose metabolism and could ameliorate the lipid profile in type 2 diabetic men. Results of a controlled study. *Diabetes Care*; 21(5): 717-724

Ma J, Folsom AR, Shahar E, Eckfeldt JH. (1995). Plasma fatty acid composition as an indicator of habitual dietary fat intake in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in communities (ARIC) Study Investigators. *Am J Clin Nutr*; 62(3): 564-571

McCall TB, O'Leary D, Bloomfield J, O'Moráin CA. Therapeutic potential of fish oil in the treatment of ulcerative colitis *Aliment Pharmacol Ther.* 1989; 3(5): 415-424.

- MacDonald TT, Bajaj-Elliott M, Pender SL. (1999). T cells orchestrate intestinal mucosal shape and integrity. *Immunology Today*; 20(11): 505-510.
- MacIver DH, McNally PG, Ollerenshaw JD, Sheldon TA, Heagerty AM. (1990). The effect of short chain fatty acid supplementation on membrane electrolyte transport and blood pressure. *J Hum Hypertens*; 4: 485-490.
- McCully KS. (1996). Homocysteine and vascular disease. *Nature Med*; 2: 386-389
- McNaughton SA, Hughes MC, Marks GC. (2007). Validation of a FFQ to estimate the intake of PUFA using plasma phospholipid fatty acids and weighed foods records. *Br J Nutr*; 97(3): 561-568
- Magaro M, Altomonte L, Zoli A, Mirone L, De Sole P, Di Mario G, Lippa S, Oradei A. (1988). Influence of diet with different lipid composition on neutrophil chemiluminescence and disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 47(10):793-796
- Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Auricchio S, Picard J, Osman M, Quarantino S, Londei M. (2003). Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. *Lancet*; 362(9377): 30-37.
- Maki KC, Reeves MS, Farmer M, Griinari M, Berge K, Vik H, Hubacher R, Rains TM. (2009). Krill oil supplementation increases plasma concentrations of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in overweight and obese men and women. *Nutr Res*.29(9): 609-615
- Mantzioris, E., James, M.J., Gibson, R.A. & Cleland, L.G. (1994). Dietary substitution with an  $\alpha$ -linolenic acid-rich vegetable oil increases eicosapentaenoic acid concentrations in tissues. *Am. J. Clin. Nutr.*, 59: 1304-1309
- Marangoni F, Colombo C, Galli C. (2004). A method for the direct evaluation of the fatty acid status in a drop of blood from a fingertip in humans: applicability to nutritional and epidemiological studies. *Anal Biochem*; 326(2): 267-272
- March MN. (1993). Gluten sensitivity and latency: can patterns of intestinal antibody secretion define the great 'silent majority?'. *Gastroenterology*; 104(5):1550-
- Marckmann P, Lassen A, Haraldsdóttir J, Sandström B. (1995). Biomarkers of habitual fish intake in adipose tissue. *Am J Clin Nutr*; 62(5): 956-959
- Marietta E, Murray J. (2012). Animal models to study gluten sensitivity. *Semin Immunopathol* ; 34(4): 497-511.
- Marquez Infante M. (2008). Historia de la enfermedad celiaca. En *Todo sobre la enfermedad celiaca*. Ed Consejería de Sanidad y Consumo. Asociación celiacos de Madrid. pp 14-18 [www.celiacosmadrid.org](http://www.celiacosmadrid.org)
- Maroon JC, Bost JW. (2006). Omega-3 fatty acids (fish oil) as an anti-inflammatory: an alternative to nonsteroidal anti-inflammatory drugs for discogenic pain. *Surg Neurol*; 65(4): 326-331
- Martin-Pagola A, Perez-Nanclares G, Ortiz L, Vitoria JC, Hualde I, Zaballa R, Preciado E, Castaño L, Bilbao JR (2004). MICA response to gliadin in intestinal mucosa from celiac patients. *Immunogenetics*; 56(8): 549-554



- Martínez Sesmero JM. (2012). Riesgo Cardiovascular en el Estudio Área de Toledo. Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
- Martínez Sesmero JM, Guillén Casla T, Bastida S, Aragonés Gallego A, Sánchez-Muniz FJ. A (2016). study of anthropometric, biochemical and nutritional parameters in adolescents in the Área of Toledo, Spain. JONNPR; 1: 239-248.
- Mata P, Varela O, Alonso R, La Hoz C, De Oya M, Badimon L. (1997). Monounsaturated and polyunsaturated n-6 fatty acid-enriched diets modify LDL oxidation and decrease human coronary smooth muscle cell DNA synthesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 17: 2088-2095.
- Matysiak-Budnik T, Moura IC, Arcos-Fajardo M, Lebreton C, Ménard S, Candalh C, Ben-Khalifa K, Dugave C, Tamouza H, van Niel G, Bouhnik Y, Lamarque D, Chaussade S, Malamut G, Cellier C, Cerf-Bensussan N, Monteiro RC, Heyman M. (2008). Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease *J Exp Med*; 205(1): 143-154
- Matysiak-Budnik T, Candalh C, Dugave C, Namame A, Cellier C, Cerf-Bensussan N, Heyman M. (2003). Alterations of the intestinal transport and processing of gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology*; 125 (3): 696-707
- Mayer K, Gokorsch S, Fegbeutel C, Hattar K, Rosseau S, Walmrath D, Seeger W, Grimminger F. (2003). Parenteral nutrition with fish oil modulates cytokine response in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*; 167 (10): 1321-1328
- Mehra MR, Lavie CJ, Ventura HO, Milani RV. (2006). Fish oils produce anti-inflammatory effects and improve body weight in severe heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 25(7): 834-838
- Mensink RP, Katan MB. (1992). Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials; 2(8): 911-919
- Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, Tretiakova M, Bhagat G, Krausz TN, Raulet DH, Lanier LL, Groh V, Spies T, Ebert EC, Green PH, Jabri B. (2004). Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity*; 21(3): 357-366
- Mesa MD, Aguilera CM, Ramírez-Tortosa CL, Gil A, Ramírez-Tortosa MC. (2006). Effect of olive oil on cardiovascular risk factor, LDL oxidation and atherosclerosis development. En: *Olive oil and health*. Quiles JL, Ramírez-Tortosa MC, Yaqoob P (Eds) Cabi Oxfordshire. UK, pp 194-222
- Metcalf RG, James MJ, Gibson RA, Edwards JR, Stubberfield J, Stuklis R, Roberts-Thomson K, Young GD, Cleland LG. (2007). Effects of fish-oil supplementation on myocardial fatty acids in humans. *Am.J.Clin Nutr*. 85(5): 1222-1228
- Meydani M. (2000). Omega-3 fatty acids alter soluble markers of endothelial function in coronary heart disease patients. *Nutr. Rev*; 58: 56-59.
- Michaeli B, Berger MM, Revelly JP, Tappy L, Chioléro R. (2007). Effects of fish oil on the neuro-endocrine responses to an endotoxin challenge in healthy volunteers. *Clin Nutr*; 26(1): 70-77
- Mickleborough TD, Murray RL, Ionescu AA, Lindley MR. (2003). Fish oil supplementation reduces severity of exercise-induced bronchoconstriction in elite athletes. *Am J Respir Crit Care Med*; 168(10): 1181-1189

- Miles EA, Calder PC. (2012). Influence of marine n-3 polyunsaturated fatty acids on immune function and a systematic review of their effects on clinical outcomes in rheumatoid arthritis. *Br J Nutr*; 107 (suppl 2): S171-184
- Milte CM, Coates AM, Buckley JD, Hill AM, Howe PR. (2008). Dose-dependent effects of docosahexaenoic acid-rich fish oil on erythrocyte docosahexaenoic acid and blood lipid levels. *Br.J.Nutr*; 99(5): 1083-1088
- Milner JA. (2002). Alimentos funcionales y salud: una perspectiva estadounidense. *Br J Nutr*; 88(suppl 2): S151-S158
- Molberg O, Mcadam SN, Körner R, Quarsten H, Kristiansen C, Madsen L, Fugger L, Scott H, Norén O, Roepstorff P, Lundin KE, Sjöström H, Sollid LM. (1998). Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nat Med*; 4(6): 713-717.
- Molina-Infante J, Santolaria S, Sanders DS, Fernández-Bañares F. (2015). Systematic review: noncoeliac gluten sensitivity. *Aliment Pharmacol Ther*; 41(9): 807-820.
- Moore SA, Hurt E, Yoder E, Sprecher H, Spector AA. (1995). Docosahexaenoic acid synthesis in human skin fibroblasts involves peroxisomal retroconversion of tetracosahexaenoic acid. *J Lipid Res*; 36(11): 2433-2443.
- Moreno ML, Rodríguez-Herrera A, Sousa C, Comino I. (2017). Biomarkers to monitor gluten-free diet compliance in celiac patients. *Nutrients*; 6(9): 1.
- Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C (2009) Ingestas recomendadas para la población española. En: Tablas de composición de alimentos. 13th Edn. Ediciones Pirámide, Madrid.
- Mostad IL, Bjerre KS, Lydersen S, Grill V. (2008). Effects of marine n-3 fatty acid supplementation on lipoprotein subclasses measured by nuclear magnetic resonance in subjects with type II diabetes. *Eur J Clin Nutr*; 62(3): 419-429
- Mostad IL, Bjerre KS, Basu S, Sutton P, Frayn KN, Grill V. (2009). Addition of n-3 fatty acids to a 4-hour lipid infusion does not affect insulin sensitivity, insulin secretion, or markers of oxidative stress in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*; 58(12): 1753-1761
- Motard-Bélanger A, Charest A, Grenier G, Paquin P, Chouinard Y, Lemieux S, Couture P, Lamarche B. (2008). Study of the effect of trans fatty acids from ruminants on blood lipids and other risk factors for cardiovascular disease *Am J Clin Nutr*; 87(3): 593-599
- Mowat AM. (2003). Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol*; 3(4): 331-341
- Mozaffarian D, Ascherio A, Hu FB, Stampfer MJ, Willett WC, Siscovick DS, Rimm EB. (2005). Interplay between different polyunsaturated fatty acids and risk of coronary heart disease in men. *Circulation*; 111(2): 157-164.
- Muench S y Watzl B. (2010). Incorporation of ingredients rich in omega-3 fatty acids into functional meat products. *Mitteil Fleischf Kulmb*; 49: 39–48.
- Murray JA, Rubio-Tapia A. (2012). Diarrhoea due to small bowel diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*; 26(5): 581-600

- Murray IA, Daniels I, Coupland K, Smith JA, Long RG. (2002). Increased activity and expression of iNOS in human duodenal enterocytes from patients with celiac disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*; 283(2): G319-326.
- Nadhem ON, Azeez G, Smalligan RD, Urban S. (2015). Review and practice guidelines for celiac disease in 2014. *Postgrad Med*; 127(3): 259-265.
- Nakamura A, Tanabe S, Watanabe J, Makino T. (2005). Primary screening of relatively less allergenic wheat varieties. *J Nutr Sci Vitaminol*; 51: 204-206.
- Narváez I, Pérez B, del Mar Alcalde M, Jiménez C, Soria A. (2003). Chronic viral hepatitis, interferon, diabetes mellitus, and celiac disease. *Am J Gastroenterol*; 98(10): 2336-2337
- Navas-Carretero S, Pérez-Granados AM, Schoppen S, Vaquero MP. (2009). An oily fish diet increases insulin sensitivity compared to a red meat diet in young iron-deficient women. *Br J Nutr*; 102(4): 546-553
- Neff LM, Culiner J, Cunningham-Rundles S, Seidman C, Meehan D, Maturi J, Wittkowski KM, Levine B, Breslow JL. (2011). Algal docosahexaenoic acid affects plasma lipoprotein particle size distribution in overweight and obese adults. *J Nutr*.141(2): 207-213
- Nettleton JA. (1991). Omega-3 fatty acids: comparison of plant and seafood sources in human nutrition. *J.Am.Diet.Assoc*; 91(3): 331-337.
- Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KE, Johansen FE, Fausa O, Sollid LM, Jahnsen J, Scott H, Brandtzaeg P (1998). Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease. *Gastroenterology*; 115(3): 551-563.
- Nilsson-Ehle P, Garfinkel AS, Schotz MC. (1980). Lipolytic enzymes and plasma lipoprotein metabolism *Annu Rev Biochem*; 49(1): 667-693
- Norrish AE, Skeaff CM, Arribas GL, Sharpe SJ, Jackson RT. (1999). Prostate cancer risk and consumption of fish oils:a dietary biomarker-based case-control study.*Br J Cancer*; 81(7): 1238-1242
- Norte-Navarro AI, Ortiz-Moncada R. (2011) Spanish diet quality according to the healthy eating index. *Nutr Hosp*; 26: 330-336.
- Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. (1999). The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol*; 11(10): 1185-1194
- Ohteki T, Tada H, Ishida K, Sato T, Maki C, Yamada T, Hamuro J, Koyasu S. (2006). Essential roles of DC-derived IL-15 as a mediator of inflammatory responses in vivo. *J Exp Med*; 203(10): 2329-2338.
- OMS. (2003). Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Serie de informes técnicos OMS (Organización Mundial de la Salud)
- Oram JF, Alberts JJ, Cheung MC, Bierman EL. (1981). The effects of subfractions of high density lipoproteins on cholesterol efflux from cultured fibroblast. Regulation of low density lipoprotein receptor activity. *J Biol Chem*; 256: 8348

- Orchard T.J, Temprosa, Goldberg R, Haffner S, Ratner R, Marcovina, Fowler S. (2005). The effect of metformin and intensive lifestyle intervention on the metabolic syndrome: the Diabetes Prevention Program randomized trial. *Ann. Intern. Med*; 142: 611-619.
- Ortega RM, López-Sobaler AM, Andrés P, Requejo AM, Aparicio A, Molinero LM. (2004) DIAL software for assessing diets and food calculations. Departamento de Nutrición (UCM) and Alce Ingeniería SA Madrid; (<http://www.alceingenieria.net/nutrición.htm>, accessed February 2014).
- Pawlosky RJ, Hibbeln JR, Novotny JA, Salem N Jr. (2001). Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans *J Lipid Res*; 42(8): 1257-1265
- Ortega C. (2011). Interacción genético-ambiental en la modulación de adipocitoquinas y marcadores de inflamación en su asociación con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular en población mediterránea. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia.
- Papazafiropoulou AK, Kardara MS, Pappas SI. (2012). Pleiotropic effects of omega-3 fatty acids. *Recent Pat Endocr Metab Immune Dru Discov*; 6: 40-46.
- Park Y, Park S, Yi H, Kim HY, Kang SJ, Kim J, Ahn H. (2009). Low level of n-3 polyunsaturated fatty acids in erythrocytes is a risk factor for both acute ischemic and hemorrhagic stroke in Koreans *Nutr Res*; 29(12): 825-830
- Parks JS, Bullock BC. (1987). Effect of fish oil versus lard diets on the chemical and physical properties of low density lipoproteins of nonhuman primates. *J Lipid Res*; 28: 173-18
- Parra D, Ramel A, Bandarra N, Kiely M, Martínez JA, Thorsdottir I. (2008). A diet rich in long chain omega-3 fatty acids modulates satiety in overweight and obese volunteers during weight loss. *Appetite*; 51(3): 676-680
- Paschos GK, Magkos F, Panagiotakos DB, Votteas V, Zampelas A. (2007). Dietary supplementation with flaxseed oil lowers blood pressure in dyslipidaemic patients. *Eur J Clin Nutr*; 61(10): 1201-1206
- Paschos GK, Zampelas A, Panagiotakos DB, Katsiougianis S, Griffin BA, Votteas V, Skopouli FN. (2007). Effects of flaxseed oil supplementation on plasma adiponectin levels in dyslipidemic men. *Eur J Nutr*; 46(6): 315-320
- Patel PS, Sharp SJ, Luben RN, Khaw KT, Bingham SA, Wareham NJ, Forouhi NG. (2009). Association between type of dietary fish and seafood intake and the risk of incident type 2 diabetes: the European prospective investigation of cancer (EPIC)-Norfolk cohort study. *Diabetes Care*; 32(10): 1857-1863
- Paulley JW. (1954). Observation on the aetiology of idiopathic steatorrhoea; jejunal and lymphnode biopsies. *Br Med J*; 2(4900): 1318-1321
- Pawlosky RJ, Hibbeln JR, Novotny JA, Salem NJr. (2001). Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans. *J.Lipid Res*; 42(8):v1257-1265.
- Penagini F, Dilillo D, Meneghin F, Mameli C, Fabiano V, Zuccotti GV. (2013). Gluten-free diet in children: an approach to a nutritionally adequate and balanced diet. *Nutrients*; 5(11): 4553-4565.
- Peoples GE, McLennan PL, Howe PR, Groeller H. (2008). Fish oil reduces heart rate and oxygen consumption during exercise. *J.Cardiovasc.Pharmacol*; 52(6): 540-547

- Pérez-Guisado J, Muñoz-Serrano A, Alonso-Moraga A. (2008). Spanish ketogenic Mediterranean diet: a healthy cardiovascular diet for weight loss. *Nutr J*; 7: 30.
- Pérez-Jiménez F, López-Miranda J, Pinillos D, Velasco MJ, Castro P, Ostos M, Bravo M, Blanco A, Jiménez J. (1998). A high-MUFA and NCEP diet decrease the insulin resistance in young healthy subjects. *Circulation*; 90: 193S.
- Perunicic-Pekovic GB, Rasic ZR, Pljesa SI, Sobajic SS, Djuricic I, Maletic R, Ristic-Medic DK. (2007). Effect of n-3 fatty acids on nutritional status and inflammatory markers in haemodialysis patients. *Nephrology (Carlton)*.12(4):331-336
- Piolot A, Blache D, Boulet L, Fortin LJ, Dubreuil D, Marcoux C, Davignon J, Lussier-Cacan S. (2003). Effect of fish oil on LDL oxidation and plasma homocysteine concentrations in health. *J Lab Clin Med*; 141(1): 41-49
- Pirich C, Gaszo A, Granegger S, Sinzinger H. (1999). Effects of fish oil supplementation on platelet survival and ex vivo platelet function in hypercholesterolemic patients. *Thromb Res*; 96(3): 219-227
- Pilz S, Tomaschitz A, Ma W, Drechsler C, Ritz E, Zittermann A, Cavalier E, Pieber T, Lappe J, Grant WB, Holick MF, Dekker JM. (2011). Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clin Endocrinol*; 75: 575-584.
- Plourde M, Cunnane SC. (2007). Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: implications for their dietary essentiality and use as supplements. *Appl Physiol Nutr Metab*; 32(4): 619-634
- Polanco Allué I. (2008). Diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca. Ministerio de Sanidad y Consumo (Ed.) Madrid, España.
- Polanco, I, Larrauri, J. (1990). Does transient gluten intolerance exist? En: Kumar PJ, Walker-Simyh JA. (Eds). *Coeliac disease: one hundred years*. Middlesex. Leeds University Press pp 226-230. Polanco Allué I, Mearin Manrique ML. Eds). *Enfermedad Celíaca*. En: *Manual del celíaco*. Enfermedad Celíaca. Real Patronato sobre Discapacidad. Madrid, 2002
- Poppitt SD, Howe CA, Lithander FE, Silvers KM, Lin RB, Croft J, Ratnasabapathy Y, Gibson RA, Anderson CS. (2009). Effects of moderate-dose omega-3 fish oil on cardiovascular risk factors and mood after ischemic stroke: a randomized, controlled trial. *Stroke*; 40(11): 3485-3492
- Pot GK, Brouwer IA, Enneman A, Rijkers GT, Kampman E, Geelen A. (2009). No effect of fish oil supplementation on serum inflammatory markers and their interrelationships: a randomized controlled trial in healthy, middle-aged individuals. *Eur J Clin Nutr*; 63(11): 1353-1359
- Potischman N. (2003). Biologic and methodologic issues for nutritional biomarkers. *J Nutr*; 133(Suppl3): 875S-880S
- Pulido O, Zarkadas M, Dubois S, Macisaac K, Cantin I, La Vieille S, Godefroy S, Rashid M. (2013). Clinical features and symptom recovery on a gluten-free diet in Canadian adults with celiac disease. *Can J Gastroenterol*; 27 (8): 449-453.
- Ouaaz F, Arron J, Zheng Y, Choi Y, Beg AA. (2002). Dendritic cell development and survival require distinct NF-kappaB subunits. *Immunity*; 16 (2): 257-270

- Ráki M, Tollefsen S, Molberg O, Lundin KE, Sollid LM, Jahnsen F. (2006). A unique dendritic cell subset accumulates in the celiac lesion and efficiently activates gluten-reactive T cells. *Gastroenterology*; 131(2): 428-438 <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2006.06.002>
- Ramel A, Parra D, Martín JA, Kiely M, Thorsdottir I. (2009). Effects of seafood consumption and weight loss on fasting leptin and ghrelin concentrations in overweight and obese European young adults. *Eur J Nutr*; 48(2): 107-11
- Rangel Huerta D, Miles L, Calder P y Gil Hernández A. (2013). Ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y sistema inmunitario. En: libro blanco de los omegas 3. (Ed) Gil-Hernández A y Serra Majem L. Editorial Médica Panamericana. Argentina; pp 231-242
- Reseland JE, Anderssen SA, Solvoll K, Hjerman J, Urdal P, Holme I, Drevon CA. (2001). Effect of long term changes in diet and exercise on plasma leptin concentrations. *Am.J.Clin.Nutr*; 73(2): 240-245
- Rhodes LE, Durham BH, Fraser WD, Friedmann PS. (1995). Dietary fish oil reduces basal and ultraviolet B-generated PGE2 levels in skin and increases the threshold to provocation of polymorphic light eruption. *J Invest Dermatol*.105(4): 532-535
- Ribes-Koninckx E, Donat Aliaga M, (2013). Nuevos criterios diagnósticos en el niño y en el adolescente. En: *Enfermedad Celíaca presente y futuro*. (Ed) Polanco Allue I. Madrid; pp 5-11
- Rivellese AA, Maffettone A, Iovine C, Di Marino L, Annuzzi G, Mancini M, Riccardi G. (1996). Long-term effects of fish oil on insulin resistance and plasma lipoproteins in NIDDM patients with hypertriglyceridemia. *Diabetes Care*.19(11): 1207-1213
- Rizzi L, Bochicchio D y Bargellini A. (2009). Effects of dietary microalgae, other lipid sources, inorganic selenium and iodine on yolk n-3 fatty acid composition, selenium content and quality of eggs in laying hens. *J Sci Food Agric*; 89: 1775–1781.
- Rodrigo L, Garrote J A, Vivas S. (2008). Celiac disease. *Medicina clinica*; 131: 264-270.
- Rodrigo Saez L. (2006). Celiac disease in the adult. *Rev Esp Enferm Dig*; 98(6):397-407.
- Rodrigo Sáez L. (2007). Enfermedad celiaca en el adulto. En: *Todo sobre la enfermedad celiaca*. Asociación de celiacos de Madrid (Coordinador). Madrid 2007, pp. 56-59
- Rodríguez-Montealegre A, Celada P, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. (2018). Acerca de la enfermedad celíaca. Breve historia de la celiarquía. *Journal of negative no positive results*
- Roldán B y Camarero C. (2010). Enfermedad celiaca y diabetes mellitus tipo I. En: *Todo sobre la enfermedad celiaca* Asociación de celiacos de Madrid (Coordinador). 2007, pp 65-77
- Roumen C, Corpeleijn E, Feskens E.J, Mensink ., Saris W.H, Blaak E.E. (2008). Impact of 3-year lifestyle intervention on postprandial glucose metabolism: the SLIM study. *Diabet. Med*; 25: 597-605.
- Ruiz-Bravo López A, Jiménez Valera M. (2010) Sistema inmunitario y mecanismos de inmunidad innata y adaptativa. En: *Tratado de Nutrición* , tomo I, 2ª ed. Ed Gil A Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2010; p 865-894
- Sampalis F, Bunea R, Pelland MF, Kowalski O, Duguet N, Dupuis S. (2003). Evaluation of the effects of Neptune Krill Oil on the management of premenstrual syndrome and dysmenorrhea. *Altern Med Rev*; 8(2): 171-179

- Sampath H, Ntambi JM. (2005). Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Annu.Rev.Nutr*; 25: 317-340.
- Samuelsson, B., Dahlen, S.E., Lindgren, J.A., Rouzer, C.A. & Serhan, C.N. (1987). Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. *Science*, 237: 1171-1176.
- Corey E.J, Shih C, Cashman J.K. (1983). Docosahexaenoic acid is a strong inhibitor of prostaglandin but not leukotriene biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 80: 3581-3584.
- Sánchez-Muniz FJ, Oubiña P, Ródenas, Benedí J, Cuesta C. (2003). Platelet aggregation, thromboxane production and thrombogenic ratio in postmenopausal women consuming high oleic acid-sunflower oil or palmolein. *Eur J Nutr*; 42(6): 299-306.
- Sánchez-Muniz FJ, Oubiña P, Benedí J, Ródenas S, Cuesta C. (1998). A preliminary study on platelet aggregation in postmenopausal women consuming extra-virgin olive oil and high-oleic acid sunflower oil. *J Am Oil Chem Soc*; 75: 217-223.
- Sánchez-Muniz FJ, Varela P, Bastida S, González JM. (2001). Enfermedad cardiovascular, hipertensión arterial y dislipemias. En: *Cuidados farmacológicos y nutricionales en el paciente en la edad avanzada*. Carvajal A, Varela P (Eds)
- Sánchez-Muniz FJ, Merinero MC, Rodríguez-Gil S, Ordovás JM, Ródenas S, Cuesta C. (2002). Dietary fat saturation effects apolipoprotein. All levels and HDL composition in postmenopausal women. *J Nutr*; 132: 50-54
- Sánchez-Muniz FJ. (2003). Lípidos. En: *Nutrición y dietética*. García-Arias MT, García-Fernández MC (Eds.) Universidad de León. Secretariado de Publicaciones y Medios Audiovisuales. León, pp 119-133.
- Sánchez-Muniz FJ, Carbajal A, Ródenas S, Méndez MT, Bastida S, Raposo R, Ruiz, T. (2003). Nutritional assessment, health markers and lipoprotein profile in postmenopausal women belonging to a closed community. *Eur J Clin. Nutr.* 2003, 54, Suppl. 1: S26-S30.
- Sánchez-Muniz FJ. (2007). Aceite de oliva, clave de vida en la Cuenca Mediterránea. *An Real Acad Farm*; 73: 653-692.
- Sánchez-Muniz FJ, Nus M. (2008). Importancia de la interacción dieta-genética en la prevención cardiovascular. En: *Genética, nutrición y enfermedad*. Vaquero P. (coordinadora general). Instituto Tomás Pascual Sanz y CSIC, EDIMSA. Madrid, pp. 127-144.
- Sánchez-Muniz FJ, Maki KC, Schaefer E, Ordovás JM. (2009). Serum lipids and antioxidant responses in hypercholesterolemic men and women receiving plant sterol esters vary by apolipoprotein E genotype. *J Nutr*; 139: 13-19.
- Sánchez-Muniz FJ. (2012). Dietary fibre and cardiovascular health. *Nutr Hosp*; 27: 40-54
- Sánchez-Muniz FJ, (editor). (2013). *Nutrición y felicidad*. Instituto de España. Real Academia Nacional de Farmacia. Madrid, España
- Sánchez-Muniz FJ, Bastida S. (2013). Lípidos. En: *Libro Blanco de la Nutrición en España*. Varela-Mosquera G (Coordinador). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y Fundación Española de la Nutrición (FEN) (ed.), pp. 113-124.

Sánchez-Muniz FJ, Bastida Codina S. (2013). Lípidos. En: Libro Blanco de la Nutrición en España. Varela Moreiras G (Coordinador general). Fundación Española de la Nutrición y Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Madrid, pp. 113-124

Sánchez-Muniz FJ, Bocanegra A, Bastida S, Benedí J. (2013). Algae and cardiovascular health. En: Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals. Woodhead Publishing. Sawston, pp. 369–415.

Sánchez-Muniz FJ, Gesterio E, Espárrago Rodilla M, Rodríguez-Bernal B, Bastida S. (2013<sup>a</sup>). La alimentación de la madre durante el embarazo condiciona el desarrollo pancreático, el estatus hormonal del feto y la concentración de biomarcadores al nacimiento de Diabetes mellitus y síndrome metabólico. *Nutr Hosp*; 28: 250-274.

Sánchez-Muniz FJ, Bocanegra A, Benedí J, Bastida S. (2013<sup>b</sup>). Algae and cardiovascular health. En: Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals, Domínguez H. (ed.). Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Oxford. No. 256; pp. 369-415.

Sánchez-Muniz FJ. (2016). Obesity: a very serious public health. *Nutr Hosp*; 27: 40-54

Sánchez-Muniz FJ, Sanz Pérez B. (2016). Hidratación y dieta en la prevención y tratamiento de la obesidad. En: “Tercer Curso Avanzado sobre Obesidad”. *An Real Acad Farm*; 82: Número especial: 106-128.

Sánchez-Muniz FJ. (2018). Obesidad. Un componente clave del síndrome metabólico. En IV y V Curso Avanzados sobre Obesidad y Síndrome Metabólico. Sánchez-Muniz FJ. (ed). Real Academia Nacional de Farmacia. Madrid, pp. 17-44.

Sanders TA, Gleason K, Griffin B, Miller GJ. (2006). Influence of an algal triacylglycerol containing docosahexaenoic acid (22 : 6n-3) and docosapentaenoic acid (22 : 5n-6) on cardiovascular risk factors in healthy men and women. *J.Nutr*; 95(3): 525-531

Santos MT, Valles J, Aznar J, Beltrán M, Herraiz M. (1984). Effect of smoking on plasma and platelet fatty acid composition in middle-aged men. *Atherosclerosis*; 50(1): 53-62.

Sapone A, Bai JC, Ciacci C, Dolinsek J, Green PH, Hadjivassiliou M, Kaukinen K, Rostami K, Sanders DS, Schumann M, Ullrich R, Villalta D, Volta U, Catassi C, Fasano A. (2012). Spectrum of Gluten-Related Disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC medicine* 10: 13.

Sapone A, Lammers KM, Mazzarella G, Mikhailenko I, Carteni M, Casolaro V, Fasano A. (2010). Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *Int Arch Allergy Immunol*; 152(1): 75-80

Sasaki S, Ushio F, Amano K, Morihara M, Todoriki O, Uehara Y, Toyooka E. (2000). Serum biomarker-based validation of a self administered diet history questionnaire for Japanese subjects. *J Nutr Sci Vitaminol*; 46: 285-296

Sáyago-Ayerdi SG, Vaquero P, Schultz-Moreira A, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. (2008). Usefulness and controversial issues of middle-chain fatty acids consumption on lipoprotein metabolism and obesity. *Nutr Hosp*; 139: 13-19



Schaefer E. (2001). Lipoproteins, nutrition and heart disease. At Seminars in Atherosclerosis at Tufts University. Jean Mayer USDA Human Nutrition Research Center on Aging at Tufts University. Boston, USA

Schaefer EJ, Gleason JA, Dansinger ML. (2009). Dietary fructose and glucose differentially affect lipid and glucose homeostasis. *J Nutr*; 139: 1257S-1262S.

Schnappinger M, Sausenthaler S, Linseisen J, Hauner H, Heinrich J. (2009). Fish consumption, allergic sensitisation and allergic diseases in adults *Ann Nutr Metab*; 54(1): 67-74.

Schulzke JD, Bentzel CJ, Schulzke I, Riecken EO, Fromm M. (1998). Epithelial tight junction structure in the jejunum of children with acute and treated celiac sprue. *Pediatr Res*; 43(4Pt 1): 435-441

SENC, Sociedad Española de Nutrición Comunitaria. La Guía de la Alimentación Saludable Nueva Pirámide de la Alimentación (SENC 2004).

[www.portalesmedicos.com/noticias/guia\\_alimentacion.htm](http://www.portalesmedicos.com/noticias/guia_alimentacion.htm) y

[www.ucm.es/info/nutri1/.../PiramideRecomendadaSENC2004](http://www.ucm.es/info/nutri1/.../PiramideRecomendadaSENC2004)

Serhan C.N, Clish C.B, Brannon J, Colgan S.P, Chiang N, Kronert K. (2000). Novel functional sets of lipid-derived mediators with antiinflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing. *J. Exp. Med.*; 192: 1197-1204.

Serhan CN. (2007). Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu Rev Immunol*; 25: 101-137

Seierstad SL, Seljeflot I, Johansen O, Hansen R, Haugen M, Rosenlund G, Froyland L, Arnesen H. (2005). Dietary intake of differently fed salmon; the influence on markers of human atherosclerosis. *Eur J Clin Invest*; 35(1): 52-59

Serra Majem L, Arijia V, Fernández JD. (2001). Evaluación del estado nutricional. En: Piédrola G, ed *Medicina Preventiva y Salud Pública*, 10ªed. Barcelona: Masson; 897-909

Serra-Majem L, Nissensohn M, Overby NC, Fekete K. (2012). Dietary methods and biomarkers of omega 3 fatty acids: a systematic review. *Br J Nutr*; 107(suppl 2): S64-S76

Serra-Majem L, Trichopoulou A, Ngo de la Cruz J, Cervera P, García Álvarez A, La Vecchia C, Lemtouni A, Trichopoulos D. (2004). International Task Force on the Mediterranean Diet. Does the definition of the Mediterranean diet need to be updated? *Public Health Nutr*; 7: 927-929

Serrano-Ríos M, Ordovás JM, Gutiérrez-Fuentes JA. (2011). Obesity, inflammation and the metabolic síndrome. En: *Obesity*. Serrano-Ríos M, Ordovás JM, Gutiérrez-Fuentes JA (Eds) Elsevier and Fundacion Lilly, Amsterdam

Sharma M, Singh P, Agnihotri A, Das P, Mishra A, Verma AK, Ahuja A, Sreenivas V, Khadgawat R, Gupta SD, Makharia GK. (2013). Celiac disease: A disease with varied manifestations in adults and adolescents. *J Dig Dis*; 14(10): 518-525

Shear CL, Webber LS, Freedman DS, Srinivasan SR, Berenson GS. (1985). The relation between parental history of vascular disease and cardiovascular disease risk factors in children. The Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol*; 122: 762-771.

- Shewry PR, Halford NG, Belton PS, Tatham AS. (2002). The Structure and properties of gluten: An elastic protein from wheat grain. *Philos Trans R soc Lond B Biol Sci*; 357(1418): 133-142
- Shiner M. (1956). Duodenal biopsy. *Lancet*; 1: 17–19
- Simon JA, Fong J, Bernert JT, Browner WS. (1996). Relation of smoking and alcohol consumption to serum fatty acids. *Am.J.Epidemiol*; 144(4): 325-334.
- Simopoulos AP. (2011). Importance of the omega-6/omega-3 balance in health and disease: evolutionary aspects of diet. *World Rev Nutr Diet*; 102: 10-21
- Singer P, Melzer S, Goschel M, Augustin S. (1990). Fish oil amplifies the effect of propranolol in mild essential hypertension. *Hypertension*; 16(6): 682-691
- Sioen I, Hacquebard M, Hick G, Maindix V, Larondelle Y, Carpentier YA, De Henauw S. (2009). Effect of ALA-enriched food supply on cardiovascular risk factor in males. *Lipids*; 44(7): 603-611
- Skodstad L, Borjesson O, Kjallman A, Seiving B, Akesson B. (1992). Effects of six months of fish oil supplementation in stable rheumatoid arthritis : a double blind , controlled study . *Scand J Rheumatol*; 21: 178-85
- Smith, W.L., Marnett, L.J. & DeWitt, D.L. (1991). Prostaglandin and thromboxane biosynthesis. *Pharmacol. Ther*; 49: 153-179.
- Soinio M, Marniemi J, Laakso M, Lehto S, Rönkämaa T. (2004). Elevated plasma homocysteine is an independent predictor of coronary heart disease events in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med*; 140: 94-100
- Sperling RI, Benincasa AI, Knoell CT, Larkin JK, Austen KF, Robinson DR. (1993). Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit phosphoinositide formation and chemotaxis in neutrophils. *J Clin Invest*; 91(2): 651-660
- Spiteller G. (2005). Furan fatty acids: Occurrence, Synthesis, and Reactions. Are furan fatty acids responsible for the cardioprotective effects of a fish diet? *Lipids*; 40 (8): 753- 771
- Sprecher H. (2002). The roles of anabolic and catabolic reactions in the synthesis and recycling of polyunsaturated fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*; 67(2-3): 79-83
- Steinberg D. (1997). Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*; 272(34): 20963-20966
- Stokes PL, Asquith P, Holmes GK, Mackintosh P, Cooke WT. (1972). Histocompatibility antigens associated with adult coeliac disease. *Lancet*; 2: 162–164
- Strawford A, Antelo F, Christiansen M, Hellerstein M. (2004). Adipose tissue triglyceride turnover, de novo lipogenesis, and cell proliferation in humans measured with  $^2\text{H}_2\text{O}$ . *Am.J. Physiol. Endocrinol.Metab*; 286(4): E577-E588
- Suárez Perdiguer M. (1945). Enfermedad celíaca y síndrome celíaco. Concepto y patogénesis. *Rev Esp Pediatr*; 1: 683-695
- Sublette ME, Segal-Isaacson CJ, Cooper TB, Fekri S, Vanegas N, Galfalvy HC, Oquendo MA, Mann JJ. (2011). Validation of a food frequency questionnaire to assess intake of n-3

polyunsaturated fatty acids in subjects with and without major depressive disorder. *J Am diet Assoc*; 111(1): 117-123

Sullivan BL, Williams PG, Meyer BJ. (2006). Biomarker validation of a long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acid food frequency questionnaire. *Lipids*; 41(9): 845-850

Sun Q, Ma J, Campos H, Hankinson SE, Hu FB. (2007). Comparison between plasma and erythrocyte fatty acid content as biomarkers of fatty acid intake in US women. *Am J Clin Nutr*; 86 (1): 74-81

Sundrarjun T, Komindr S, Archararit N, Dahlan W, Puchaiwatananon O, Angtharak S, Udomsuppavakul U, Chuncharunee S. (2004) Effects of n-3 fatty acids on serum interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and soluble tumour necrosis factor receptor p55 in active rheumatoid arthritis. *J Int Med Res* 32(5):443-454

Syage JA, Kelly CP, Dickason MA, Ramirez AC, Leon F, Dominguez R, Sealey-Voyksner JA. (2018). Determination of gluten consumption in celiac disease patients on a gluten-free diet. *Am J Clin Nutr*; 107(2): 201-207

Tanpowpong P, Broder-Fingert S, Katz AJ, Camargo CA Jr. (2012). Age-related patterns in clinical presentations and gluten-related issues among children and adolescents with celiac disease. *Clin Transl Gastroenterol* 16; 3:e9.

Tardy A.L, Lambert-Porcheron S, Malpuech-Brugere C, Giraudet C, Rigaudiere J.P, Laillet B, Leruyet P, Peyraud J.L, Boirie Y, Laville M, Michalski M.C, Chardigny J.M, Morio B. (2009). Dairy and industrial sources of trans fat do not impair peripheral insulin sensitivity in overweight women. *Am. J. Clin. Nutr*; 90: 88-94

Taylor CG, Noto AD, Stringer DM, Froese S, Malcolmson L. (2010). Dietary milled flaxseed and flaxseed oil improve N-3 fatty acid status and do not affect glycemic control in individuals with well-controlled type 2 diabetes *J Am Coll Nutr*; 29(1): 72-80

The World Health Organisation. (2003). Diet nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of the WHO/FAO joint Expert Consultation. WHO. Technical Report Series 916

Theobald H.E, Goodal, A.H, Sattar N, Talbot D.C, Chowienczyk, P.J, Sanders T.A. (2007). Low-dose docosahexaenoic acid lowers diastolic blood pressure in middle-aged men and women. *J. Nutr*; 137: 973-978.

Thomas L, Olpin S, Scott R, Wilkins M. (1987). Coronary heart disease and the composition of adipose tissue taken at biopsy. *Human Nutr: Food Sci. Nutr.* 41F: 167-172. KE, Sapone A, Fasano A, Vogel SN (2006). Gliadin stimulation of murine macrophage inflammatory gene expression and intestinal permeability are MyD88-dependent: Role of the innate immune response in Celiac disease. *J Immunol*; 176(4): 2512-2521

Thompson AK, Miniham M, Williams CM. (2011). Trans fatty acids, insulin resistance and diabetes. *Eur J Clin Nutr*; 65: 553-564.

Thusgaard M, Christensen JH, Morn B, Andersen TS, Vige R, Arildsen H, Schmidt EB, Nielsen H. (2009). Effect of fish oil (n-3 polyunsaturated fatty acids) on plasma lipids, lipoproteins and inflammatory markers in HIV-infected patients treated with antiretroviral therapy: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Scand J Infect Dis.* 41(10): 760-766

- Tivoli F, Masi C, Guidetti E, Negrini G, Paterini P, Bolondi L. (2015). Clinical and diagnostic aspects of gluten related disorders. *World J Clin Cases*; 3(3): 275-284
- Tommasini A, Not T, Ventura A. (2011). Ages of celiac disease: from changing environment to improved diagnostics. *World J Gastroenterol*; 17(32): 3665-3671
- Tonding SF, Silva FM, Antonio JP, Azevedo MJ, Canani LH, Almeida JC. (2014). Adiposity markers and risk of coronary heart disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Nutr J*; 13:124.
- Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ, Sides EG, Wang CH, Stampfer M. (2004). Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction and death. The Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *JAMA*; 291: 565-575
- Tricon S, Burge G.C, Williams C.M, Calder PC, Yagoob P. (2005). The effects of conjugated linoleic acid on human health-related outcomes. *Proc. Nutr. Soc*; 64(2): 171-182
- Troncone R, Auricchio S. (1993). Coeliac disease. En: Wyllie R, Hyamans SS. (Eds.). *Pediatric gastrointestinal disease*. Filadelfia. Decker pp. 544-561
- Tulleken JE, Limburg PC, Muskiet FA, Van Rijswijk MH. (1990). Vitamin E status during dietary fish oil supplementation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*.33(9):1416-1419
- Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson J.G, Valle T.T, Hamalainen H, IlanneParikka P, Keinanen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M. (2001). Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N. Engl. J. Med*; 344: 1343-1350
- Tur Marí JA, Bibiloni Esteva MM, Sureda Gomila A, Pons Biescas A. (2013). Fuentes dietéticas de ácidos grasos poliinsaturados omega-3: riesgos y beneficios en salud pública: En: Libro Blanco de los omega-3. Gil Hernández A y Serra Majem L (Dir). Editorial Panamericana Buenos Aires; pp 389-423
- Turner JR. (2006). Molecular basis of epithelial barrier regulation: From basic mechanisms to clinical application. *Am J Pathol*; 169 (6): 1901-1909
- Tsuzuki T, Tokuyama Y, Igarashi M, Miyazawa T. (2004). Tumor growth suppression by  $\alpha$ -eleostearic acid, a linolenic acid isomer with a conjugated triene system, via lipid peroxidation. *Carcinogenesis*; 25 (8): 1417-1425.
- Tull SP, Yates CM, Maskrey BH, O'Donnell VB, Madden J, Grimble RF, Calder PC, Nash GB, Rainger GE. (2009). Omega-3 Fatty acids and inflammation: novel interactions reveal a new step in neutrophil recruitment. *PLoS Biol*.7(8): e1000177
- Unger G, Benozzi S, Perruza F, Pennacchiotti G. (2014). Triglycerides and glucose index: A Useful indicator of insulin resistance; *Endocrinol Nutr*; 61(10): 533-540
- Unger G, Benozzi SF, Perruzza F, Pennacchiotti GL. (2014). Triglycerides and glucose index: A useful indicator of insulin resistance. *Endocrinol Nutr*; 61: 533-540.
- Ueshima H, Stamler J, Elliott P, Chan Q, Brown IJ, Carnethon MR, Daviglus ML, He K, Moag-Stahlberg A, Rodriguez BL, Steffen LM, Van Horn L, Yarnell J, Zhou B;INTERMAP Research

- Group.(2007).Food omega-3 fatty acid intake of individuals (total, linolenic acid, long-chain) and their blood pressure: INTERMAP study.Hypertension; 50(2): 313-319
- van der Meij BS, Langius JA, Smit EF, Spreeuwenberg MD, von Blomberg BM, Heijboer AC, Paul MA, van Leeuwen PA. (2010). Oral nutritional supplements containing (n-3) polyunsaturated fatty acids affect the nutritional status of patients with stage III non-small cell lung cancer during multimodality treatment. J Nutr; 140(10): 1774-1780
- Van Roon J, Haex AJ, Seeder WA, de Jong. (1960). Clinical and biochemical analysis of gluten toxicity. I. Experientia 15; 16: 209-209.
- Vaquero L, Caminero A, Nunez A, Hernando M, Iglesias C, Casqueiro J, Vivas S. (2014). Coeliac disease screening in first-degree relatives on the basis of biopsy and genetic risk. Eur J Gastroenterol Hepatol; 26(3): 263-267.
- Vázquez J, Sánchez-Muniz FJ. (1994). Proteínas de pescado y metabolismo del colesterol. Rev Esp Cienc Tecnol Alimen; 34: 589-608.
- Vedin I, Cederholm T, Freund Lev. (2008). Effects of docosahexaenoic acid rich n-3 fatty acid supplementation on cytokine release from blood mononuclear leukocytes: the OmegaAD study. Am J Clin Nutr; 87: 1616-22
- Vemuri M, Kelley D. (2008). The effects of dietary fatty acids on lipid metabolism. In Chow, C.K., London, UK.ed. Fatty Acids in Foods and their Health Implications; pp. 591-630. CRC Press
- Vessby B, Wahlund L.O, Palmblad J. (2008). Effects of docosahexaenoic acid-rich n-3 fatty acid supplementation on cytokine release from blood mononuclear leukocytes: the OmegaAD study. Am. J. Clin. Nutr; 87: 1616-1622
- Vincentini O, Quaranta MG, Viora M, Agostoni C, Silano M. (2011). Docosahexaenoic acid modulates in vitro the inflammation of celiac disease in intestinal epithelial cells via the inhibition of cPLA2. Clin. Nutr; 30: 541–546.
- Virtanen JK, Mursu J, Voutilainen S, Tuomainen TP. (2009). Serum long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and risk of hospital diagnosis of atrial fibrillation in men.Circulation; 120(23): 2315-2321
- Visioli F, Risè P, Plasmati E, Pazzucconi F, Sirtori CR, Galli C. (2000). Very low intakes of N-3 fatty acids incorporated into bovine milk reduce plasma triacylglycerol and increase HDL-cholesterol concentrations in healthy subjects.Pharmacol Res; 41(5): 571-576
- Vivas S, Ruiz de Morales JM, Martinez J, Gonzalez MC, Martin S, Martin J, Cechini C, Olcoz JL. (2003). Human recombinant anti-transglutaminase antibody testing is useful in the diagnosis of silent coeliac disease in a selected group of at-risk patients. Eur J Gastroenterol Hepatol; 15(5): 479-483.
- Vivas S, Ruiz de Morales JM, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J, Gutierrez S. (2008). Age-Related Clinical, Serological, and Histopathological Features of Celiac Disease. The American journal of Gastroenterology 103: 2360-2365; quiz2366
- Vogten AJ, Peña AS. (1987). Coeliac disease: one century after Samuel Gee (1888). Neth J Med. 31(5-6): 253-255.

- Volta U, De Giorgio R. (2012). New understanding of gluten sensitivity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*; 9 (5): 295-299.
- Vriezinga SL, Mearin ML. (2013). Gluten tolerance as a result of earlier exposure?]. *Ned Tijdschr Geneesk*; 157(23): A6349
- Warensjö E, Vessby B, Cederholm T, Risérus U. (2008). Markers of dietary fat quality and fatty acid desaturation as predictors of total and cardiovascular mortality: a population-based prospective study. *Am J Clin Nutr*.88(1): 203-209
- Watanabe N, Watanabe Y, Kumagai M, Fujimoto K. (2009). Administration of dietary fish oil capsules in healthy middle-aged Japanese men with a high level of fish consumption. *Int J Food Sci Nutr*; 60 Suppl 5: 136-142
- Weijers HA, Va de Kamer JH. (1960). Some biochemical investigations into the cause of wheat sensitivity in celiac disease. *Gastroenterology*; 38: 587-591.
- Welch GN, Loscalzo J. (1998). Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med*; 338: 1042-1050
- Wiesberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante Jr AW. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Inv*; 112(12): 1796
- Wierzbicki AS. (2007). Homocysteine and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Diab Vasc Dis Res*; 4(2): 143-150
- White P.J. (2008). Fatty acids in oilseeds (vegetable oils). In Chow, K.C. ed. *Fatty Acids in Foods and their Health Implications*, pp. 227-262. CRC Press, New York, NY.
- Wild CP, Andersson C, O'Brien NM, Wilson L, Woods JA. (2001). A critical evaluation of the application of biomarkers in epidemiological studies on diet and health. *Br J Nutr*; 86(Suppl1): S37-S53
- Willett WC. (1998). Diet and coronary heart disease. En: Willett WC, ed *Nutritional epidemiology*, 2ªed. New York: Oxford University Press; pp 414-466
- Wood J.D, Enser M, Richardson R.I, Whittington F.M. (2008). Fatty acids in meat and meat products. En: *Grasas y ácidos grasos en nutrición humana Consulta de expertos* Ed. Astrup VA, Bazinet R, Thomas Brenna JT, Calder PC, Crawford MA, Dangour A, Donahoo In Editorial Fundación Iberoamericana de nutrición y Organización de las Naciones
- Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Ginebra. Granada pp. 87-107
- Woods J, Ward G, Salem NJr. (1996). Is docosahexaenoic acid necessary in infant formula? Evaluation of high linolenate diets in the neonatal rat. *Pediatr. Res*; 40(5): 687-694.
- Woodward J. (2016). Improving outcomes of refractory celiac disease - current and emerging treatment strategies. *Clin Experimen Gastroenterol*; 9: 225-236.
- Xiong J, Zhu S, Zhou Y, Wu H, Wang C. (2009). Regulation of omega-3 fish oil emulsion on the SIRS during the initial stage of severe acute pancreatitis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*; 29(1): 35-38

Yamagishi K, Nettleton JA, Folsom AR; ARIC Study Investigators. (2008). Plasma fatty acid composition and incident heart failure in middle-aged adults: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am Heart J*; 156(5): 965-974

Yoshimura S, Bondeson J, Brennan FM, Foxwell BM, Feldmann M. (2001). Role of NFkappaB in antigen presentation and development of regulatory T cells elucidated by treatment of dendritic cells with the proteasome inhibitor PSI. *Eur J Immunol*; 31(6): 1883-1893

Zamora Navarro S, Varela Moreiras G, Varela Mosquera G. (2010). Evolución de la Nutrición. En: *Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición*. Tomo I, Sánchez de Medina F. (coordinador). Tratado de Nutrición. (Gil A, Ed). Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, pp 1-16

Zapata-Gonzalez F, Rueda F, Petriz J, Domingo P, Villarroya F, Diaz-Delfin J, de Madariaga MA, Domingo JC. (2008). Human dendritic cell activities are modulated by the omega-3 fatty acid, docosahexaenoic acid, mainly through PPAR(gamma):RXR heterodimers: Comparison with other polyunsaturated fatty acids. *J. Leukoc. Biol*; 84, 1172–1182

Zhang J, Wang C, Li L, Man Q, Song P, Meng L, Du ZY, Froyland L. (2010). Inclusion of Atlantic salmon in the Chinese diet reduces cardiovascular disease risk markers in dyslipidemic adult men. *Nutr Res*; 30(7): 447-454

Zhao YT, Shao L, Teng LL, Hu B, Luo Y, Yu X, Zhang DF, Zhang H. (2009). Effects of n-3 polyunsaturated fatty acid therapy on plasma inflammatory markers and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in elderly patients with chronic heart failure *J Int Med Res*; 37(6): 1831-1841

Zhu FS, Liu S, Chen XM, Huang ZG, Zhang DW. (2008). Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids from seal oils on nonalcoholic fatty liver disease associated with hyperlipidemia. *World J Gastroenterol*.14(41): 6395-6400

Zipser RD, Patel S, Yahya KZ, Baisch DW, Monarch E. (2003). Presentations of adult celiac disease in a nationwide patient support group. *Dig Dis Sci*; 48 (4): 761-764.







ANEXO I

CARTA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Se va a realizar un estudio a nivel interterritorial en el cuál el objetivo principal va a ser demostrar que un consumo adecuado de ácidos grasos omega-3 favorecen la recuperación del celiaco en menor tiempo del que se necesita si dicho consumo no se produce.

Para realizar este estudio necesitamos que firmen un consentimiento informado en el cuál nos den su permiso para trabajar con los datos que recopilemos. Dichos datos se tratarán conforme a la ley orgánica de protección de datos del 99. Si en cualquier momento desean retirarse del estudio, sus datos no constarán en el mismo.

Este proyecto consta de varias fases y en él intervienen un amplio equipo de médicos, farmacéuticos y, en general, profesionales sanitarios.

Comienza con la confirmación mediante biopsia de que usted o su hijo/a es celiaco. En este momento el médico le da una primera información

En una segunda visita, cuando le realicen la primera analítica, será algún miembro del equipo de nutrición el que se encargará de completar la información y hacer el seguimiento nutricional del paciente durante la realización del mismo. En este proyecto es necesario que usted rellene unos cuestionarios de información referentes a la nutrición y un registro dietético de tres días que nosotros le facilitaremos.

Será necesario que cada paciente consuma tres vasos de leche diarios que se les facilitará de forma totalmente gratuita por el equipo investigador. Ello es posible gracias a la colaboración de PULEVA BIOTECH, que son los que nos ayudan económicamente a realizar este proyecto.

Usted tendrá que hacerse analíticas de seguimiento al mes, a los tres meses y a los seis meses para ver si nuestra hipótesis es acertada, puesto que con estas analíticas vamos a determinar una serie de marcadores de inflamación.

Tendrán siempre a su disposición para cualquier tipo de duda que les surja una dirección de correo electrónico de la persona que se encarga de la recogida de los datos nutricionales.

Por último comentarles que como criterios de exclusión para participar en este proyecto están la intolerancia a la lactosa y alergia a la proteína de la leche. Para poder participar en el estudio su edad estará entre 1 a 18 años para niños y de 18 a 60 años para adultos.

Proyecto Omega-3 en Celiacos

**Anexo II: Carta de presentación.**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN "OMEGA-3 EN EL PRONÓSTICO Y RECUPERACIÓN INTESTINAL DE PACIENTES CELIACOS EN EL HOSPITAL VIRGEN DE LA SALUD**

El equipo de trabajo formado por Profesores del Departamento de Nutrición de la Universidad Complutense de Madrid y la doctoranda de la misma Universidad, D<sup>a</sup> María Ángeles Rodríguez Montealegre, junto al Jefe de Servicio de Digestivo del Hospital Virgen de la Salud de Toledo y su equipo, están realizando una investigación cuya hipótesis de trabajo es que los ácidos grasos omega-3 en la dieta de los celiacos mejoran la recuperación intestinal y funcional de éstos.

Para ello necesitamos ponernos en contacto con usted para solicitar su participación en dicho proyecto. Rogamos dejen su número de teléfono y dirección de correo electrónico para ampliar la información. Así mismo les dejamos nuestro número de teléfono y dirección de correo electrónico para cualquier consulta que quieran realizar.

Agradeciéndoles de antemano su participación, atentamente,

Fdo.: M<sup>a</sup> Ángeles Rodríguez Montealegre

Tlf: 647865572

[serlulama@wanadoo.es](mailto:serlulama@wanadoo.es)

Fdo.: Francisco J. Sánchez-Muniz

Tlf: 91 3941828

[frasan@fam.ucm.es](mailto:frasan@fam.ucm.es)



**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN “OMEGA-3 EN EL PRONÓSTICO Y RECUPERACIÓN INTESTINAL DE PACIENTES CELIACOS EN LA ZONA CENTRO (CASTILLA-LA MANCHA Y MADRID)”**

Se me ha explicado que el proyecto es un estudio doble ciego en el que habrá una intervención nutricional consecuencia de la cuál habrá dos grupos. Uno de ellos recibirá leche enriquecida en ácidos grasos omega-3 y otro una leche control (normal). Durante la realización del estudio se realizarán cuatro extracciones de sangre a los 0, 1, 3 y 6 meses. Dichas extracciones no suponen un incremento en el número con respecto a las que se realizan a los pacientes que no participan en el estudio, aunque en cada extracción se realizará la medición de unos sustancias en sangre diferentes a las mediciones habituales, por lo cual una cantidad pequeña quedará reservada para su envío a un laboratorio de referencia.

He comprendido la naturaleza y propósito del proyecto de investigación y he tenido la oportunidad de aclarar mis dudas en entrevista personal con la doctoranda M<sup>a</sup> Ángeles Rodríguez Montealegre. Estoy satisfecho/a con la información proporcionada y por ello DOY EL CONSENTIMIENTO para participar en el proyecto de investigación.

Entiendo que **este documento puede ser revocado por mí en cualquier momento**, antes del fin proyecto, sin que por ello se modifique la atención que recibiré.

Y para que así conste, **consiento firmando el presente original** después de leído, por duplicado, cuya copia se me proporciona.

\_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_

Firma paciente o representante legal  
D.N.I. nº:

Firma M<sup>a</sup> Ángeles Rodríguez Montealegre

OoooooooooooooO O O O O O O O ooooooooooooooooooooooooo

EN CASO DE REVOCACIÓN:  
Retiro mi consentimiento para realizar el estudio:

\_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_

Firma paciente o representante legal  
D.N.I. nº:

Firma M<sup>a</sup> Ángeles Rodríguez Montealegre

**ANEXO A LA FISCALIA DE MENORES DE TOLEDO**

**DOÑA MARÍA ÁNGELES RODRIGUEZ MONTEALEGRE**, mayor de edad, licenciada en farmacia, provista de DNI 4176940 y domiciliada a efectos de notificaciones en Camino de Torrijos número 2, Barcience (Toledo), ante este Ministerio Fiscal comparece y **DICE**:

Que por medio del presente escrito, informa que se va a realizar en el Hospital Virgen de la Salud de Toledo un estudio titulado "OMEGA 3 EN EL PRONÓSTICO Y RECUPERACIÓN INTESTINAL DE PACIENTES CELIACOS EN LA ZONA CENTRO (COMUNIDAD CATILLA-LA MANCHA Y MADRID).

En el mismo y, con la autorización de sus padres, se van a recoger datos referentes a menores; éstos se someterán a tratamiento estadístico y en ningún momento se podrá identificar de forma individual a ningún menor, por lo que queda garantizado su derecho a la intimidad.

En su virtud,

**A LA FISCALIA SUPLICO:** Que teniendo por presentado el presente escrito, lo admita y tenga por realizada la información contenida en el cuerpo del mismo.

En Toledo a 7 de junio de 2010

Fdo.: María Ángeles Rodríguez Montealegre



**Anexo V: Datos sobre el nacimiento, lactación y calendario de introducción de nuevos alimentos.**

**Nombre del niño/a o adulto**

**Apellido del niño/a o adulto**

**Dirección padres o tutores o del adulto**

**POR FAVOR**

- 1) DEJE EN BLANCO LA PREGUNTA QUE NO SEPA CONTESTAR DE FORMA CORRECTA.
- 2) CONTESTE CON CLARIDAD LAS PREGUNTAS
- 3) CUANDO HAYA VARIAS POSIBILIDADES RODEE CON UNCÍRCULO DE FORMA CLARA LA CONTESTACIÓN QUE CONSIDERE CORRECTA.
- 4) LAS PREGUNTAS VAN DIRIGIDAS A LOS PADRES/TUTORES, NO OBSTANTE LOS ADULTOS VOLUNTARIOS TAMBIÉN DEBEN CONTESTARLAS

**¿Cómo fue su nacimiento? ¿Qué tipo de parto?**

- a) Normal
- b) De presentación de nalgas
- c) Forceps
- d) Ventosa
- e) Otros (especificar)

**¿Se trató de un parto?**

- a) Simple (un niño/a solo)
- b) Gemelos/mellizos
- c) Múltiple (tres o más hijos)

**¿El niño fue prematuro?**

- a) Sí
- b) No

**Si lo sabe exactamente ¿En qué semana de gestación nació?**

**La semana de gestación estuvo dentro del intervalo**

- a) 20-30
- b) 30-<37
- c) 37-<42
- d) 42 o más

**¿El peso exacto al nacer fue?**

**Anexo V: Datos sobre el nacimiento, lactación y calendario de introducción de nuevos alimentos.**

**Si no recuerda exactamente que peso tenía, ¿en que intervalo lo pondría?**

- a) <1,5 kg
- b) 1,5 kg a <2,5 kg
- c) 2,5 kg a <4,0 kg
- d) 4,0 kg o más

**¿La talla exacta al nacer era**

**¿**

**Si no recuerda exactamente que talla tenía, ¿en qué intervalo lo pondría?**

- a) menos de 45 cm
- b) de 45 cm a menos de 50 cm
- c) Más de 50 cm

**¿Ha tenido procesos catarrales o de otro tipo con más frecuencia de lo normal?**

- a) Sí
- b) No
- c) No sé

**¿Se alimentó de leche materna?**

- a) Sí
- b) No

**¿Durante cuanto tiempo se alimentó con leche materna?**

- a) Menos de 1 mes
- b) De 1 a dos meses
- c) De dos a tres meses
- d) De tres a cuatro meses
- e) De cuatro a seis meses
- f) De seis a nueve meses
- g) Más de 9 meses

**¿Durante cuanto tiempo consumió sólo leche materna?**

- a) Menos de 1 mes
- b) De 1 a dos meses
- c) De dos a tres meses
- d) De tres a cuatro meses
- e) De cuatro a seis meses
- f) Más de seis meses

**¿A qué edad introdujo leche de inicio o iniciación?**

- a) Al nacer
- b) Antes de 1 mes
- c) Antes de los tres meses
- d) Entre el tercero y el cuarto mes
- e) Entre el cuarto y el sexto mes
- f) Entre el sexto y el noveno mes
- g) Después del noveno mes
- h) No tomó leche de inicio



**Anexo V: Datos sobre el nacimiento, lactación y calendario de introducción de nuevos alimentos.**

**¿Qué leche introdujo? (tipo y marca)**

- a) En polvo
- b) Líquida

Marca

**¿Tuvo algún problema en la aceptación de la leche de iniciación?**

- a) No
- b) Sí

**Si tuvo algún problema al tomar la leche de iniciación fue**

- a) Pérdida de apetito
- b) Diarrea
- c) Pérdida de peso
- d) Ganancia excesiva de peso
- e) Otros (especificar)

**¿A qué edad inició el consumo de leche de continuación?**

- a) Al nacer
- b) Antes de 1 mes
- c) Antes de los tres meses
- d) Entre el tercero y el cuarto mes
- e) Entre el cuarto y el sexto mes
- f) Entre el sexto y el noveno mes
- g) Entre el noveno mes y el año
- h) Después de cumplir 1 año
- i) No tomó leche de continuación

**¿Qué leche de continuación utilizó (tipo y marca)?**

- a) En polvo
- b) Líquida

Marca

**¿Tuvo algún problema en la aceptación de dicha leche de continuación?**

- a) No
- b) Sí

**Si tuvo algún problema al tomar la leche de continuación fue**

- a) Pérdida de apetito
- b) Diarrea
- c) Pérdida de peso
- d) Ganancia excesiva de peso
- e) Otros (especificar)

**¿Con qué edad consumió por primera vez fruta o zumo)?**

- a) antes de los 4 meses
- b) entre los 4 y 6 meses
- c) Después de los seis meses



**Anexo V: Datos sobre el nacimiento, lactación y calendario de introducción de nuevos alimentos.**

**¿Con qué edad consumió por primera vez verdura?**

- a) antes de los 4 meses
- b) entre los 4 y 6 meses
- c) Después de los seis meses

**¿Con qué edad consumió por primera vez pollo o ternera?**

- a) antes de los 4 meses
- b) entre los 4 y 6 meses
- c) Después de los seis meses

**¿Con qué edad consumió por primera vez pescado?**

- a) antes de los 4 meses
- b) entre los 4 y 6 meses
- c) entre los 6 y los 9 meses
- d) entre los 9 meses y el año
- e) Después del año

**¿Con qué edad consumió por primera vez cereales sin gluten?**

- a) antes de los 4 meses
- b) entre los 4 y 6 meses
- c) entre los 6 y los 9 meses
- d) entre los 9 meses y el año
- e) Después del año

**¿Qué marca de cereales (papilla) sin gluten era (Nestle, Nutriben, Ordesa, ...etc)?**

**¿Con qué edad consumió por primera vez cereales con gluten?**

- f) antes de los 4 meses
- g) entre los 4 y 6 meses
- h) entre los 6 y los 9 meses
- i) entre los 9 meses y el año
- j) Después del año

**¿Qué marca de cereales (papilla) con gluten era (Nestle, Nutriben, Ordesa, ...etc)?**

**¿Tomó leche de crecimiento o pasó directamente a consumir leche de vaca?**

- a) Sí, le pasé directamente
- b) No, tomó leche de crecimiento

**Si tomó leche de crecimiento durante cuanto tiempo**

- a) antes de los 4 meses
- b) entre los 4 y 6 meses
- c) entre los 6 y los 9 meses
- d) entre los 9 meses y el año
- e) entre el primer año y el segundo año
- f) Después del segundo año

**Anexo V: Datos sobre el nacimiento, lactación y calendario de introducción de nuevos alimentos.**

**¿De qué marca era la leche de crecimiento?**

**Si tomó leche de vaca a que edad lo hizo**

- a) antes de los 9 meses
- b) entre los 9 meses y el año
- c) entre el primer año y el segundo año
- d) Después del segundo año

**¿De qué tipo era la leche de vaca**

- a) desnatada
- b) semidesnatada
- c) entera
- d) enriquecida en ácidos grasos omega-3
- e) Otras leches enriquecidas ¿En qué?

**¿De qué marca?**

**¿Cuántos días come pescado a la semana?**

- a) Ninguno
- b) 1 día
- c) 2 días
- d) 3 o más días

**¿A qué edad le diagnosticaron la enfermedad celiaca?**

**¿Qué síntomas manifestó antes del diagnóstico de enfermedad celiaca?**

Numere los más importantes



Proyecto Omega-3 en Celiacos

**Anexo V: Datos sobre el nacimiento, lactación y calendario de introducción de nuevos alimentos.**

Por favor indique su edad actual (años y meses)

Peso actual (kg)

Talla actual (metro)

Indique cualquier otro dato de interés.

Complexión

Actividad Física

Horas de Televisión al día

Número de comidas

Muchísimas gracias por su interés y colaboración

**Anexo VI: Encuesta Nutricional. Registro dietético de los tres días.**

**Registro del consumo de alimentos de tres días**

Registro de tres días (incluya un festivo)

Número:

Apellido:

Nombre:

**Instrucciones**

En este cuestionario deberá ir anotando todos los alimentos y bebidas consumidos durante tres días, incluyendo un festivo.

Es muy importante no cambiar el régimen habitual de comidas.

Para evitar que se olvide algún alimento, conviene anotar todo inmediatamente después de comer. No olvide indicar todos los ingredientes de cada receta.

También deberá anotar todas las comidas realizadas fuera de casa

El cuestionario consta de dos hojas para cada día. En la primera deberá anotar todos los menús y procesos culinarios y en la segunda tendrá que describir con detalle todos los ingredientes y cantidades (pesando o mediante medidas caseras: cucharada soperas, de postre, vaso de agua, vino, plato hondo, ....). Trate de estimar el aceite en cucharadas soperas o de postre.

Indique si el peso del alimento se refiere al alimento crudo o cocinado, con o sin desperdicios. Cada hoja deberá estar identificada con la fecha y el día de la sem



Proyecto Omega-3 en Celiacos

Hoja de menús

PRIMER DÍA

Fecha:

Día de la semana

Hora:	DESAYUNO
Lugar:	
Hora:	MEDIA MAÑANA
Lugar:	
Hora:	COMIDA
Lugar:	
Hora:	MERIENDA
Lugar:	
Hora:	CENA
Lugar:	
Hora:	OTRAS
Lugar:	

## PRIMER DÍA

[illegible]

Hoja de menús

**SEGUNDO DÍA**

Fecha:

Día de la semana

Hora:	DESAYUNO
Lugar:	
Hora:	MEDIA MAÑANA
Lugar:	
Hora:	COMIDA
Lugar:	
Hora:	MERIENDA
Lugar:	
Hora:	CENA
Lugar:	
Hora:	OTRAS
Lugar:	

## SEGUNDO DÍA

[illegible]



Hoja de menús

**TERCER DÍA**

Fecha:

Día de la semana

Hora:	DESAYUNO
Lugar:	
Hora:	MEDIA MAÑANA
Lugar:	
Hora:	COMIDA
Lugar:	
Hora:	MERIENDA
Lugar:	
Hora:	CENA
Lugar:	
Hora:	OTRAS
Lugar:	

### TERCER DÍA

[illegible]

## **Anexo VII. Encuesta de frecuencia de alimentos.**

1. ¿Cuántos días a la semana consume pescado azul?
2. ¿Cuántos días a la semana consume pescado blanco?
3. ¿Cuántos días a la semana consume carnes magras y aves?
4. ¿Cuántos días a la semana consume huevos?
5. ¿Cuántos días a la semana consume legumbres?
6. ¿Cuántos días a la semana consume frutos secos?
7. Cuántas raciones diarias consume de productos lácteos?
8. ¿Cuántas raciones diarias consume de aceite de oliva?
9. ¿Cuántas raciones diarias consume de verduras y hortalizas?
10. ¿Cuántas raciones diarias consume de fruta?
11. ¿Cuántas raciones de pan consume al día?
12. ¿Cuántas raciones de arroz, pasta o patatas consume a la semana?
13. ¿Cuántos vasos de agua se bebe al día?
14. ¿Toma alcohol? ¿Qué cantidad?
15. ¿Cuántas raciones semanales consume de carnes grasas y embutidos?
16. ¿Toma dulces, bollería industrial, caramelos, pasteles? ¿Qué cantidad?
17. ¿Toma bebidas refrescantes? ¿Qué cantidad?
18. ¿Toma helados? ¿Qué cantidad?
19. ¿Cuántas raciones de margarina o mantequilla consume a la semana?
20. ¿Con que tipo de aceite cocina?
21. ¿Consume alimentos funcionales? Indique cuál y en que cantidad.
22. ¿Consume alimentos suplementados con omega-3? Indique cuál y en que cantidad





FIG. 90



FIG. 91



FIG. 92

Tomada de Martínez-Sesmero (2012).

## **ANEXO VIII**

### **PROTOCOLO DE RECOGIDA DE SANGRE**

Número de Paciente.....

Número de Muestra.....

Se tomará muestras para analíticas específica (biopsias, marcadores de daño intestinal) y rutina hematológica y bioquímica.

Para marcadores especiales de daño intestinal, interleukinas y marcadores inflamatorios y proinflamatorios se tomará muestra y se congelarán a -20°C para enviar a Puleva Biotech.

Fecha de diagnóstico.....

Lugar de diagnóstico.....

Fecha de comienzo de la Intervención Nutricional (IN).....

Lugar de la INTERVENCIÓN.....

Analítica de recuperación intestinal

- (1) Al inicio
- (2) (al mes del inicio).....
- (3) (a los 3 meses del inicio).....
- (4) (a los 6 meses del inicio).....

**Paciente**

FECHA	BIOPSIA		ANÁLISIS (1,2,3,4)				SUERO		PLASMA	
	Si	No	1	2	3	4	Si	No	Si	No
	Si	No	1	2	3	4	Si	No	Si	No
	Si	No	1	2	3	4	Si	No	Si	No
	Si	No	1	2	3	4	Si	No	Si	No
	Si	No	1	2	3	4	Si	No	Si	No
	Si	No	1	2	3	4	Si	No	Si	No
	Si	No	1	2	3	4	Si	No	Si	No
	Si	No	1	2	3	4	Si	No	Si	No

Se apuntará la fecha de toma de muestra, se marcará con una cruz en la tabla adjunta si se ha tomado muestras para BIOPSIA, el periodo de recuperación intestinal (1, 2, 3 o 4) y si se toman muestras de suero y/o plasma

Proyecto Omega-3 en Celiacos

**ANEXO IX**

**SEGURO DE RESPONSABILIDAD**

Se ha contratado con MAPFRE / Vida un seguro de responsabilidad que cubre los riesgos posibles derivados del estudio tanto en voluntarios como en personal investigador.





INTERNATIONAL

HDI HANNOVER International (España), Compañía de Seguros y Reaseguros, S.A.,  
con domicilio en Madrid, c/ Luchana, 23

### COTIZACIÓN ENSAYO CLÍNICO

Con relación a su solicitud, nos es grato facilitarles nuestra cotización:

**COBERTURAS:** Ensayo Clínico denominado " **SOLICITUD DE APROBACIÓN POR EL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL COMPLEJO HOSPITALARIO VIRGEN DE LA SALUD DE TOLEDO DEL PROYECTO "OMEGA-3 EN EL PRONÓSTICO Y RECUPERACIÓN INTESTINAL DE PACIENTES CELIACOS EN LA ZONA CENTRO (CASTILLA-LA MANCHA Y MADRID)**".

Código de Protocolo: **omega-3**

<b>GARANTÍAS:</b>	EUR. 6.000.000.-, por protocolo. Sublímite: EUR 500.000.- por sujeto.
<b>PRIMA MÍNIMA:</b>	EUR. 3.600.-.
<b>TASA:</b>	€ 30.- por sujeto, incluidos violadores de protocolo (120 sujetos).
<b>N/ PARTICIPACIÓN:</b>	100%
<b>ÁMBITO GEOGRÁFICO:</b>	ESPAÑA
<b>CONDICIONADO:</b>	HDI ESPAÑA
<b>PERIODO:</b>	Aunque el EC dure 6 meses, damos cobertura de 2 años con esta prima, por posibles ampliaciones.
<b>OBSERVACIONES:</b>	- Propuesta válida durante 30 días. - La presente cotización está condicionada a que la PRIMA ESTÉ ABONADA a esta Compañía en un plazo máximo de 60 días desde el efecto de la cobertura. EN CASO DE INCUMPLIMIENTO DEL PLAZO ANTERIOR, LA COBERTURA QUEDARÁ SIN EFECTO ALGUNO.

Sin otro particular, aprovechamos la ocasión para saludarles muy atentamente.

Fdo.: Ana Belén Garrido

Dpto. RESPONSABILIDAD CIVIL

HDI SEGUROS

C/ Luchana, 23, 5º

MADRID 28010

Tlfo. directo: 914442000

Fax: 914442019

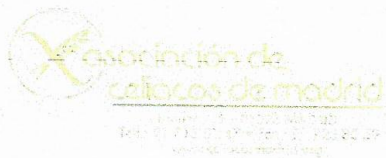
<[Mailto:ana.garrido@hdi.es](mailto:ana.garrido@hdi.es)>

### **Anexo X**

Estadística de casos de novo en Castilla-La Mancha dadas de altas en el primer semestre de 2010 en asociaciones de Celiaco de Madrid y Castilla-La Mancha.

Teniendo en cuenta las estadísticas del número de casos de novo de EC de Castilla-La Mancha dados de alta en las asociaciones de celiacos de Castilla-La Mancha (23) y Madrid (36) en las que se registra un total de 59 nuevos casos en el primer semestre de 2010 puede calcularse que el número de voluntarios .





Manuela Márquez Infante, con D.N.I. 28.455.073, Directora de la Asociación de Celiacos de Madrid, actuando en virtud del poder otorgado al efecto,

**CERTIFICA:**

Que el nº de socios de la provincia de Toledo dados de alta en la Asociación de Celiacos de Madrid entre el 1/1/2009 y el 31/5/2010 es de 36.

Y para que conste y a los efectos oportunos, expide el presente en Madrid a veintidós de junio de dos mil diez.





Manuela Márquez Infante, con D.N.I. 28.455.073, Directora de la Asociación de Celiacos de Madrid, actuando en virtud del poder otorgado al efecto,

**CERTIFICA:**

Que el nº de socios de la provincia de Toledo dados de alta en la Asociación de Celiacos de Madrid entre el 1/1/2009 y el 31/5/2010 es de 36.

Y para que conste y a los efectos oportunos, expide el presente en Madrid a veintidós de junio de dos mil diez.

## Proyecto Omega-3 en Celiacos



ASOCIACIÓN DE CELIACOS DE  
CASTILLA - LA MANCHA  
C/Doctor Fleming, nº 12, 1ª planta  
02004 ALBACETE

D. Fernando Pozuelo Espinosa, con DNI con DNI 08.957.422 - A, como Presidente de la Asociación de Celiacos de Castilla - La Mancha (ACCLM),

### CERTIFICA

Que el número de celiacos dados de alta en la Asociación de Celiacos de Castilla-La Mancha en el año 2009 fue de 33 niños y 16 adultos. Desde enero hasta el día 1 de junio del 2010 las altas han sido de 13 niños y 10 adultos.

Así se hace constar a los efectos oportunos, en Albacete a 1 de junio del 2010

Fdo.: Fernando Pozuelo  
Presidente ACCLM

Tel.: 687 553 990  
Lunas a viernes de 17 a 21 horas  
e-mail: castilla-la-mancha@celiacos.org

